

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

JOSÉ ANDERSON SILVA DE FREITAS

**ESTUDOS CRISTALOGRAFICO E QUANTUM-MECÂNICO DA REATIVIDADE
DE UM COMPOSTO DERIVADO DIIDROISOXAZOL (CL3ONA) FRENTE À
ENZIMA ACETICOLINESTERASE (AChE)**

Maceió

2016

JOSÉ ANDERSON SILVA DE FREITAS

ESTUDOS CRISTALOGRAFICO E QUANTUM-MECÂNICO DA REATIVIDADE DE
UM COMPOSTO DERIVADO DIIDROISOXAZOL (CL3ONA) FRENTE À ENZIMA
ACETICOLINESTERASE (AChE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Tatiane Luciano
Balliano
Coorientador: Prof. Dr. Daví Alexandro
Cardoso Ferreira

Maceió

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

F866e Freitas, José Anderson Silva de.
Estudos cristalográfico e quantum-mecânico da reatividade de um Composto derivado diidroisoxazol (CL3ONA) frente à enzima Acetilcolinesterase (AChE) / José Anderson Silva de Freitas. – 2016.
110 f. : il., graf., tabs.

Orientadora: Tatiane Luciano Balliano.
Coorientador: Davi Alessandro Cardoso Ferreira.
Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2016.

Bibliografia: f. 97-104.
Apêndice: f. 105-110.

1. Acetilcolinesterase. 2. Raio X. 3. Ligante-Enzima - Interação.
4. Teoria do Funcional de Desidade (DFT). 5. Orbitais Naturais de Ligação (NBO). 6. Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM).
I. Título.

CDU : 547.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA



BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone/Fax: (82) 3214-1144
email: ppgqb.ufal@gmail.com

FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da comissão julgadora da defesa de dissertação de mestrado de **José Anderson Silva de Freitas**, intitulada: "ESTUDOS CRISTALOGRAFICO E QUANTUM-MECÂNICO DA REATIVIDADE DE UM COMPOSTO DERIVADO DIIDROISOXAZOL (CL3ONA) FRENTE À ENZIMA ACETICOLINESTERASE (AChE)", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, em 30 de março de 2016, às 14h, na Sala de Reuniões do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas.

COMISSÃO JULGADORA

Tatiane L. Balliano.
Prof. Dra. Tatiane Luciano Balliano
Orientadora (PPQOB/IQB/UFAL)

[Signature]
Prof. Dr. Davi Alessandro Cardoso Ferreira
Coorientador (IQ/UnB)

[Signature]
Prof. Dr. Josealdo Tonholo
(PPQOB/IQB/UFAL)

[Signature]
Prof. Dra. Sílvia Beatriz Beger Uchôa
(CTEC/UFAL)

[Signature]
Prof. Dr. Mariano Alves Pereira
(PPQOB/IQB/UFAL)

[Signature]
Prof. Dra. Ana Catarina Rezende Leite
(PPQOB/IQB/UFAL)

À minha família

AGRADECIMENTOS

À **MINHA FAMÍLIA** acima de tudo e de qualquer fenômeno mitificado pela sociedade, pois **ELA** é meu tudo.

À profa. Dra. Tatiane Luciano Balliano pela orientação durante o trabalho, amizade e confiança.

Ao prof. Dr. Davi Alessandro Cardoso Ferreira pela grande contribuição à minha formação desde o início de minha graduação até o presente e pela amizade.

Ao prof. Dr. Mariano Alves Pereira pelas instruções e ajuda na discussão dos resultados cristalográficos, como também nos fundamentos.

Ao prof. Dr. Dennis de Oliveira Imbroisi pelas discussões sobre mecanismos de reações orgânicas.

Ao prof. Dr. Kleber Carlos Mundim por permitir utilizar o Gaussian09 e permitir utilizar as dependências do LMSC/IQ/UnB. Não esquecendo os amigos que lá deixei.

À amiga Sara Figueiredo de Alcântara Morais pelo apoio e incentivo desde meu início da graduação até o presente.

Aos colegas de laboratório que me receberam e auxiliaram durante o período que estive no Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular (LABCRIMM).

A todos os amigos de verdade que tive a feliz oportunidade de encontrar ao longo de minha caminhada (seria injusto nomear, pois minha memória é falha).

Ao CNPq e CAPES.

RESUMO

Os compostos com ação anticolinesterásicos são alvo da indústria farmacêutica, pois estão vinculados na mediação da transmissão de informação no sistema nervoso e muscular a partir da inibição da enzima acetilcolinesterase. Deste modo, os compostos anticolinesterásicos constituem uma classe promissora no tratamento dos efeitos das doenças neurodegenerativas. Entretanto, o uso contínuo de tais compostos apresenta efeitos colaterais e sua ação é diferente para cada paciente. Por isso é importante o desenvolvimento de novos compostos com ação anticolinesterásica. Diante deste panorama, o presente trabalho analisa a interação da molécula (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (CL3ONA) com a acetilcolinesterase (AChE) em nível teórico afim de analisar o potencial uso deste composto como um inibidor da atividade catalítica da ACh. Para tal, a estrutura da molécula foi determinada por difração de raios X e a análise da interação ligante-enzima realizada via Modelagem Molecular em nível de estrutura eletrônica. Após o estudo foi observado que a CL3ONA apresenta duas regiões suscetíveis ao ataque nucleofílico da serina da ACh: i) carbono da carbonila e ii) carbono- β insaturado à carbonila; que, por sua vez, proporciona dois mecanismos para a ação da molécula na inibição da AChE, respectivamente: i) Adição nucleofílica clássica à carbonila e ii) Adição de Michael. Além da ação inibitória competitiva foi analisado o mecanismo de inibição em que a CL3ONA não interagisse com a tríade catalítica (não-competitivo). A análise dos Orbitais Naturais de Ligação apontou o mecanismo competitivo segundo a adição nucleofílica clássica à carbonila para a interação da CL3ONA frente à AChE, pois este apresenta: i) maior número de interações com os resíduos de aminoácidos; ii) valores significativos de energia de deslocalização eletrônica para tais interações.

Palavras-chave: Acetilcolinesterase. Raios X. Interação ligante-enzima. DFT. NBO. QTAIM.

ABSTRACT

The compounds with anticholinesterase action are the target of the pharmaceutical industry, because they are tied in information transmission mediation in the nervous and muscular system from the inhibition of acetylcholinesterase. Thus, the anticholinesterase compounds constitute a means of combating neurodegenerative diseases. However, the continued use of such compounds has side effects and its action is different for each patient. It is therefore important to develop new compounds with anticholinesterase action. Given this panorama, this paper analyzes the interaction of the molecule (E) -1,1,1-trichloro-5,5-difenill-4-metoxipent-3-en-2-one (CL3ONA) with acetylcholinesterase (AChE) in theoretical level. To this end, the structure of the molecule was determined by X-ray diffraction and analysis of substrate-enzyme interaction performed through molecular modeling level electronic structure. After the study has been observed that CL3ONA has two regions susceptible to nucleophilic attack by the serine ACh: i) the carbonyl carbon, and ii) the carbon- β unsaturated carbonyl; which in turn provides two mechanisms for the action of the molecule in the inhibition of AChE, respectively: i) classical nucleophilic addition to carbonyl and ii) Michael Addition. In the competitive inhibitory action was studied the mechanism of inhibition in the CL3ONA not interact with the catalytic triad (non-competitive). Analysis of Natural connection orbitals made the competitive mechanism according to classical nucleophilic addition to the carbonyl interaction of CL3ONA front AChE, as this shows: i) increased number of interactions with amino acid residues; ii) significant amounts of delocalized electron energy for such interactions.

Keyword: Acetylcholinesterase. X-ray. Ligand-enzyme interaction. DFT. NBO. QTAIM.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Tipos da inibição reversível: a) Inibição competitiva; b) Inibição incompetitiva; c) Inibição mista.....	24
Figura 2 –	Estrutura quaternária da acetilcolinesterase: a) <i>Cartoon</i> ; b) Superfície.....	25
Figura 3 –	a) Cavidade enzimática onde se localiza a unidade catalítica funcional da enzima; b) Disposição da tríade catalítica: Ser, His e Glu.	26
Figura 4 –	Resíduos de aminoácidos interagentes com ACh na formação do aduto enzima-substrato. Em verde a ACh, em azul claro o sítio esterásico (tríade catalítica), em amarelo sítio oxiónico e em rosa o subsítio aniônico.....	27
Figura 5 –	Esquema do mecanismo da hidrólise da ACh pela AChE com os principais passos: a) Etapa de acilação da AChE; b) Etapa de desacilação da AChE.	28
Figura 6 –	Ilustração do espectro eletromagnético.	30
Figura 7 –	Ilustração do tubo de raios X.	31
Figura 8 –	Ilustração do conceito de cristal.	31
Figura 9 –	a) Retículo cristalino; b) Cella unitária.	32
Figura 10 –	Os 14 retículos de Bravais.	33
Figura 11 –	Curvas típicas de fatores de espalhamento atômico.....	35
Figura 12 –	Diagrama de energia das interações de 2c: a) Interação 2c/1e; b) interação 2c/2e para estado excitado (elétrons desemparelhados); c) interação 2c/2e (ligação covalente); d) interação 2c/2e (ligação covalente do tipo ácido-base); e) interação 2c/3e; f) interação 2c/4e.	48
Figura 13 –	Topologia da densidade (ρ) definida pelos atratores na molécula de ácido propenóico (ácido acrílico): a) mapa de relevo da densidade eletrônica no planoda molécula e b) mapa de contorno de $\rho(r)$	51
Figura 14 –	Elementos topológicos que definem o comportamento da densidade eletrônica do ácido propenóico (ácido acrílico).....	52

Figura 15 – Representação da elipticidade sobre o ponto crítico de ligação no caminho de ligação entre dois atratores.....	55
Figura 16 – Esquema para a análise das interações estabilizantes durante o empacotamento da CL3ONA.....	60
Figura 17 – Proposta estrutural para a molécula de 1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona: a) geometria Z; b) geometria E.....	62
Figura 18 – Representação: a) bidimensional e b) ORTEP da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona identificado com átomos e fator de vibração térmica a 50% de probabilidade.....	62
Figura 19 – Geometria tetraédrica do átomo C1.	66
Figura 20 – Representação do composto CL3ONA evidenciando regiões planares da molécula.....	67
Figura 21 – Representação da cela unitária do empacotamento da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona.....	67
Figura 22 – Ligações secundárias observadas no empacotamento da CL3ONA.	68
Figura 23 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).....	69
Figura 24 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONAs da vizinhança (azul) para o orbital σ^* das CL3ONA central (laranja).	70
Figura 25 – Interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático da CL3ONA central (laranja) para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).	72
Figura 26 – Interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático das CL3ONAs da vizinhança (azul) para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONA central (laranja).....	73
Figura 27 – Interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).	74

Figura 28 – Interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ das CL3ONAs da vizinhança (azul) para orbitais σ^* da CL3ONA central (laranja).	75
Figura 29 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais dos elétrons n da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* e π^* das CL3ONAs vizinhas (azul).	77
Figura 30 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e dos elétrons n das CL3ONAs da vizinhança (azul) para orbitais σ^* da CL3ONA central (laranja).	79
Figura 31 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais de elétrons n das CL3ONAs vizinhas (azul) para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central (laranja).	80
Figura 32 – Distribuição de carga oriunda da população dos Orbitais Naturais de Ligação (NBO).	82
Figura 33 – Proposta mecanística para a atuação anticolinérgica da CL3ONA: a) Adição nucleofílica clássica; b) Adição de Michael.	83
Figura 34 – Disposição espacial dos resíduos de aminoácidos que compõem a cavidade enzimática e do ligante na formação do sistema ligante-enzima: a) Sistema AChE+THA; b) Sistema AChE+FBQ; c) Sistema AChE+A8B; e, d) Sistema AChE+TJH.	85
Figura 35 – Interações que estabilizam o aduto ligante-enzima: a) Sistema AChE+THA; b) Sistema AChE+FBQ; c) Sistema AChE+A8B; e, d) Sistema AChE+TJH. ..	86
Figura 36 – Resultado do <i>docking</i> para a interação competitiva da CL3ONA: a) Adição nucleofílica clássica à carbonila; e, b) Adição nucleofílica ao carbono β -insaturado (Adição de Michael).	88
Figura 37 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA+AChE formado a partir do ataque nucleofílico clássico à carbonila: a) Região aromática; e, b) Região halogenada.	89
Figura 38 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA+AChE formado a partir do ataque nucleofílico ao carbono β -insaturado (Adição de Michael): a) Região aromática; e, b) Região halogenada.	91

Figura 39 – Resultado do <i>docking</i> para a interação não-competitiva da CL3ONA.	93
Figura 40 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA+AChE no modelo de ação inibitória não-competitivo.	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação dos Pontos Críticos a partir dos autovalores.	53
Tabela 2 –	Propriedades da ligação entre os átomos de carbonos nos sistemas etano, eteno e etino.	54
Tabela 3 –	Caracterização topológica das interações em moléculas diatômicas.	57
Tabela 4 –	Característica topológica das interações de camada fechada nas interações de ligação de hidrogênio e de van der Waals em sistemas bimoleculares.	58
Tabela 5 –	Compostos, recuperados do banco de dados do PDB.org, utilizados como referência para o estudo das interações ligante-enzima.	61
Tabela 6 –	Principais dados cristalográficos na determinação estrutural da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (CL3ONA).	64
Tabela 7 –	Distâncias (Å) e ângulos (°) das ligações de hidrogênio para o CL3ONA.	68
Tabela 8 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONA central para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas.	70
Tabela 9 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONAs da vizinhança para os orbitais σ^* da CL3ONA central.	71
Tabela 10 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático da CL3ONA central para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONAs vizinhas.	72
Tabela 11 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático das CL3ONAs da vizinhança para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central.	73
Tabela 12 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ da CL3ONA central para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas.	75

Tabela 13 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ das CL3ONAs da vizinhança para orbitais σ^* da CL3ONA central.....	76
Tabela 14 –	Propriedades QTAIM para as interações do tipo C...C=C, C...H-C e C-H...H-C no empacotamento da CL3ONA.....	76
Tabela 15 –	Magnitude das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais dos elétrons n da CL3ONA central para os orbitais σ^* e π^* das CL3ONAs vizinhas.....	78
Tabela 16 –	Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e elétrons n das CL3ONAs da vizinhança para orbitais σ^* da CL3ONA central.....	79
Tabela 17 –	Propriedades QTAIM para as interações do tipo CL...X-C (X = C, H, O, CL) no empacotamento da CL3ONA.....	80
Tabela 18 –	Magnitude das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais de elétrons n das CL3ONAs vizinhas para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central.....	81
Tabela 19 –	Distribuição de cargas devido à população nos Orbitais Naturais de Ligação nos centros nucleofílicos da CL3ONA determinada com a metodologia PBE1PBE/cc-pVDZ.....	83
Tabela 20 –	Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade ao ligante.	86
Tabela 21 –	Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com os ligantes: THA, FBQ e A8B.	87
Tabela 22 –	Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade à CL3ONA após o ataque nucleofílico ao carbono da carbonila.....	89
Tabela 23 –	Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com a CL3ONA via ataque nucleofílico clássico à carbonila.	90
Tabela 24 –	Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade à CL3ONA após o ataque nucleofílico ao carbono β -insaturado.	91

Tabela 25 – Distância média dos resíduos de aminoácidos do sítio oxiónico à CL3ONA após o ataque nucleofílico da serina.....	92
Tabela 26 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações da CL3ONA e o sítio oxiónico via adição nucleofílica clássica à carbonila.	92
Tabela 27 – Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade ao no modelo de ação inibitória não-competitivo.	94
Tabela 28 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com a CL3ONA via mecanismo não-competitivo.	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A8B	N ¹ -(quinolin-4-il)-N ⁸ -(1,2,3,4-tetraidroacridin-9-il)octano-1,8-diamina
Ac-AChE	Forma acetilada da Acetilcolinesterase
Ac-CoA	Acetilcoenzima A
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Ala	Alanina
anti-AChE	Composto anti-colinérgico
BuAChE	Butirilcolinesterase
CL3ONA	1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona
DA	Doença de Alzheimer
DFT	Teoria do Funcional de Densidade (<i>Density Functional Theory</i>)
FBQ	1-(3-(((4-amino-5-fluoro-2-metilquinolin-3-il)metiltio)netil)fenil)-2,2,2-trifluoroetanona
Glu	Glutamato
Gly	Glicina
HF	Hartree-Fock
His	Histidina
IACHe	Inibidor da Acetilcolinesterase

IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
IW	Interação de van der Waals
LH	Ligação de Hidrogênio
MG	Miastenia Gravis
NBO	Orbitais Naturais de Ligação (<i>Natural Bond Orbitals</i>)
Ser	Serina
PDB	Banco de Dados de Proteínas (<i>Protein Data Bank</i>)
QTAIM	Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (<i>Quantum Theory of Atoms in Molecules</i>)
THA	1,2,3,4-tetraidroacridin-9-amina
TJH	2-(2-(6-cloro-1,2,3,4-tetraidroacridin-9-ilamino)etilamino)-5-hidroxinaftaleno-1,4-diona
Trp	Triptofano
Tyr	Tirosina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivos Gerais	21
2.2	Objetivos específicos	21
3	ENZIMAS	22
3.1	Inibição da atividade enzimática	23
4	ACELCOLINESTERASE	25
4.1	Mecanismo da hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase	27
4.2	Acetilcolinesterase e a relação com doenças neurodegenerativas	28
5	DIFRAÇÃO DE RAIOS X	30
5.1	Raios X	30
5.2	Cristal	31
5.3	Difração de raios X	33
5.3.1	Fator de espalhamento atômico (f)	34
5.3.2	Fator de estrutura (F)	35
5.4	Densidade eletrônica	35
6	ESTRUTURA ELETRÔNICA	38
6.1	Teoria do Funcional de Densidade (DFT)	40
6.1.1	Teoremas da DFT	41
6.1.1.1	Primeiro Teorema	41
6.1.1.2	Segundo Teorema	41
6.1.2	Equação de Kohn-Sham	43
6.2	Análise da densidade eletrônica segundo o modelo de Orbitais Naturais de Ligação (NBO)	44

6.2.1	Orbitais naturais de ligação (NBO)	45
6.2.2	Interação doador-aceptor (Deslocalização Eletrônica)	49
6.3	Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM)	49
6.3.1	Topologia da densidade eletrônica	50
6.3.2	Pontos críticos	51
6.3.3	Propriedades da Ligação	53
6.3.3.1	Densidade Eletrônica no BCP (ρ_{BCP})	54
6.3.3.2	Laplaciano da Densidade Eletrônica no Ponto Crítico de Ligação ($\nabla^2_{\rho_{BCP}}$)	54
6.3.3.3	Elipticidade (ϵ)	55
6.3.3.4	Densidade de Energia no BCP	55
6.3.4	Topologia da ligação de hidrogênio	56
7	METODOLOGIA	59
7.1	Amostra	59
7.2	Determinação da Estrutura	59
7.3	Modelagem Molecular	59
7.3.1	Docking	59
7.3.2	Estrutura Eletrônica	60
7.3.2.1	Estudo das interações no seio cristalino	60
7.3.2.2	Estudo das interações ligante-receptor	61
8	RESULTADOS E DISCUSSÕES	62
8.1	Determinação da estrutura molecular e cristalina do composto 1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (CL3ONA)	62
8.2	Estudo das interações estabilizantes no seio cristalino	69
8.2.1	Interações do tipo O...H-C	69
8.2.2	Interações do tipo C...C=C, C...H-C e C-H...H-C	71
8.2.3	Interações do tipo CL...X-C (X = C, H, O, Cl)	77

8.3	Estudo da reatividade da CL3ONA frente à AChE	82
8.4	Interação Ligante-Proteína (ILP)	84
8.4.1	Análise das interações nos sistemas de referência.....	84
8.4.2	Análise das interações CL3ONA+ACHE	88
8.4.2.1	Interação com a tríade catalítica (Competitivo)	88
8.4.2.2	Interação com outros resíduos de aminoácidos (Não-competitivo)	92
9	CONCLUSÃO.....	96
	REFERÊNCIAS.....	97
	APÊNDICE A	105

1 INTRODUÇÃO

Na orquestração da vida, as enzimas são os maestros por excelência da conservação da vida, pois catalisam reações químicas em meio biológico que em condições equivalente em laboratório são energeticamente desfavoráveis. Assim, as enzimas são os biocatalisadores da vida. Um exemplo de enzima moldada e aperfeiçoada durante toda uma trajetória evolutiva é a acetilcolinesterase (AChE), cuja função é mediar a sinapse colinérgica em animais vertebrados e invertebrados a partir da hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) (FERSHT, 1999; NELSON; LEHNINGER; COX, 2002).

O fato da AChE estar envolvida em processos bioquímicos importantes para as funções psíquicas e psicomotoras faz com que exista uma relação desta enzima com doenças neurodegenerativas. Destarte, a AChE torna-se alvo das indústria farmacêutica para o desenvolvimento de compostos que atenuem os efeitos clínicos de tais doenças (ALDRIDGE, 1950; METCALF; FUKUTO, 1967; BOWEN et al., 1983; ENZ et al., 1993; MILLARD; BROOMFIELD, 1995; LINDNER; SCHALKE; TOYKA, 1997; WEINSTOCK, 1997).

Os estudos estrutural e da reatividade da AChE frente ao substrato nativo (ACh) possibilitou o desenvolvimento de substâncias com ação inibitória. O desenvolvimento de tais compostos revolucionou o tratamento de doenças relacionadas com a ação catalítica da enzima. Entretanto, o desenvolvimento de novos compostos bioativos é limitado (HOPWOOD et al., 1985; QUINN, 1987; SUSSMAN et al., 1991; HAREL et al., 1993; CORDELL, 1995; STREGE, 1999; DOUCET-PERSONENI et al., 2001; AMARAL et al., 2003; VIEGAS JUNIOR et al., 2004; KOEHN; CARTER, 2005; RYDBERG et al., 2006; LI; VEDERAS, 2009; NEPOVIMOVA et al., 2014; HARVEY; EDRADA-EBEL; QUINN, 2015; KIM; MOORE; YOON, 2015).

Diante deste panorama, a modelagem molecular que possibilita meios à compreensão das interações entre substrato e enzima, auxilia no desenvolvimento de novos compostos bioativos. Visto que o estudo mecanístico somente é possível através de metodologias computacionais, devido à impossibilidade da observação direta dos intermediários e dos estados de transição nas reações biológicas (FROEDE; WILSON, 1984; QUINN, 1987; GILSON et al., 1994; SHEN et al., 2002; ZHOU; WANG; ZHANG, 2010).

O presente trabalho realizou um estudo da interação substrato-enzima em nível de estrutura eletrônica, para uma melhor compreensão da reatividade do composto (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (CL3ONA) frente à AChE. Uma vez que a reatividade química de qualquer composto é determinada pelo comportamento da densidade eletrônica frente à influência de campos nucleares atômicos próximos. Desse modo, foi possível compreender o dinamismo eletrônico da região reativa do referido composto e da interação substrato-enzima do composto com a AChE.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

No presente trabalho, determinou-se a estrutura do composto 1,1,1-tricloro-4-metoxi-5,5-difenilpent-3-en-2-ona (CL3ONA), um derivado diidroisoxazólico, por difração de raios X e estudou-se a natureza eletrônica da interação substrato-enzima frente à AChE.

2.2 Objetivos específicos

- i. Determinou-se a estrutura da CL3ONA;
- ii. Estudaram-se as interações estabilizantes do empacotamento cristalino da CL3ONA a partir de análises do tipo NBO e QTAIM;
- iii. Analisou-se o possível mecanismo de atuação do composto frente à AChE;
- iv. Analisaram-se as interações que estabilizam a CL3ONA frente à AChE;
- v. Analisaram-se as interações ligante-receptor dos compostos THA, FBQ, A8B e TJH, cuja atividade inibitória da atividade da AChE é descrita na literatura, para comparação.

3 ENZIMAS

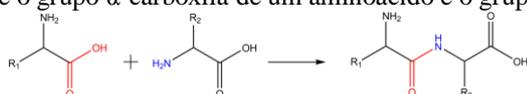
A reação biológica, semelhante à maioria das reações químicas, processa-se por intermédio de catalisadores – as enzimas. Estes biocatalisadores diferem dos catalisadores inorgânicos seja pela sua extraordinária eficiência, seja pela especificidade do substrato nativo; além de ocorrer em meio aquoso e em temperatura branda.

As enzimas, em sua maioria¹, são constituídas de aminoácidos unidos por ligações peptídicas², esta estrutura é denominada de estrutura protéica primária. A estrutura primária confere à enzima padrões estruturais locais recorrentes (α -hélices, folhas- β , dobras- β), denominados de estruturas protéicas secundárias. Na tentativa de estabilização máxima, a enzima apresenta um arranjo tridimensional global (estrutura protéica terciária) – unidade polipeptídica – podendo apresentar duas ou mais unidades polipeptídicas – estrutura quaternária. Além dos aminoácidos, as enzimas podem apresentar outros componentes químicos denominados de cofator. O cofator pode ser um íon metálico (Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , entre outros), uma molécula orgânica complexa (tiamina, riboflavina, ácido fólico, ácido ascórbico, entre outros) ou metalorgânica (por exemplo, grupo heme). Nestes dois últimos, o cofator é denominado de coenzima (NELSON; LEHNINGER; COX, 2002; CHANG, 2005).

A ação catalítica das enzimas é possível graças a uma região específica, onde a reação química é energeticamente possível. Denominada de sítio ativo, a molécula que apresenta afinidade por esta região é denominada de substrato. O sítio ativo é constituído por resíduos de aminoácidos cujos grupos funcionais interagem com o substrato a fim de formar o aduto substrato-enzima. Por isso o aduto substrato-enzima é fundamental à compreensão da ação catalítica da enzima, pois é o ponto de partida à descrição matemática da atividade enzimática (estudo cinético) e à descrição teórica do mecanismo enzimático (NELSON; LEHNINGER; COX, 2002; CHANG, 2005).

¹Exceção para um pequeno grupo de moléculas de RNA.

²A ligação peptídica ocorre entre o grupo α -carboxila de um aminoácido e o grupo α -amino de outro aminoácido:



3.1 Inibição da atividade enzimática

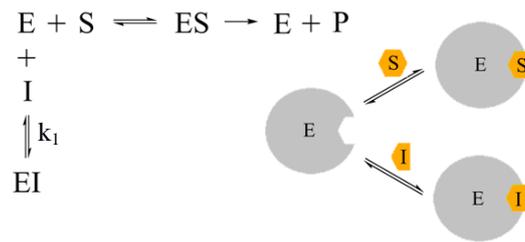
A ação enzimática, como qualquer ação catalítica, pode sofrer interferência de agentes moleculares levando à interrupção ou diminuição da atividade da enzima. Estes agentes são denominados de inibidores. Pelo fato das enzimas catalisarem importantes reações biológicas, os inibidores são importantes agentes farmacêuticos (NELSON; LEHNINGER; COX, 2002; CHANG, 2005; BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Os inibidores enzimáticos são classificados em: reversível e irreversível. Os inibidores irreversíveis são agentes que combinados à enzima acarretam na desativação ou destruição do grupo funcional da enzima. Enquanto que os inibidores reversíveis diminuem a atividade enzimática por meio de interações reversíveis (NELSON; LEHNINGER; COX, 2002).

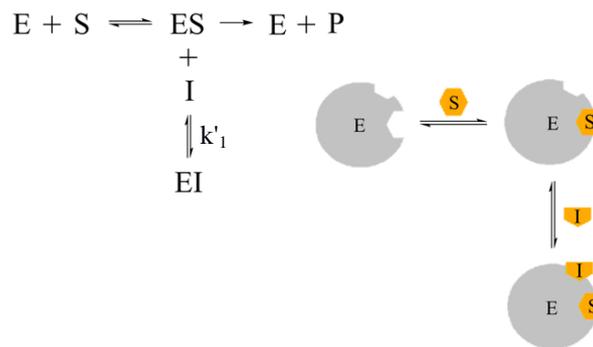
Os inibidores reversíveis são divididos em:

- i. Inibidores competitivos: moléculas que competem com o substrato pelo sítio ativo da enzima. Os inibidores competitivos apresentam estrutura análoga ao substrato. Esta condição estrutural faz com que o inibidor se ligue ao sítio ativo (E) sem proporcionar a catálise (Figura 1.a);
- ii. Inibidores incompetitivos: moléculas que se ligam em um sítio diferente do sítio ativo. O inibidor incompetitivo, diferente do inibidor competitivo, liga-se ao complexo ES (Figura 1.b);
- iii. Inibidores mistos: moléculas que se ligam a um sítio diferente do sítio ativo. Diferentemente da ação inibitória incompetitiva, os inibidores mistos podem se unir tanto a enzima (E) quanto ao aduto substrato-enzima (ES) (Figura 1.c).

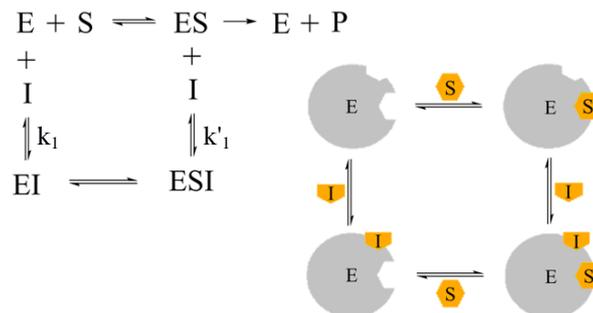
Figura 1 – Tipos da inibição reversível: a) Inibição competitiva; b) Inibição incompetitiva; c) Inibição mista.



a) Inibição competitiva



b) Inibição incompetitiva



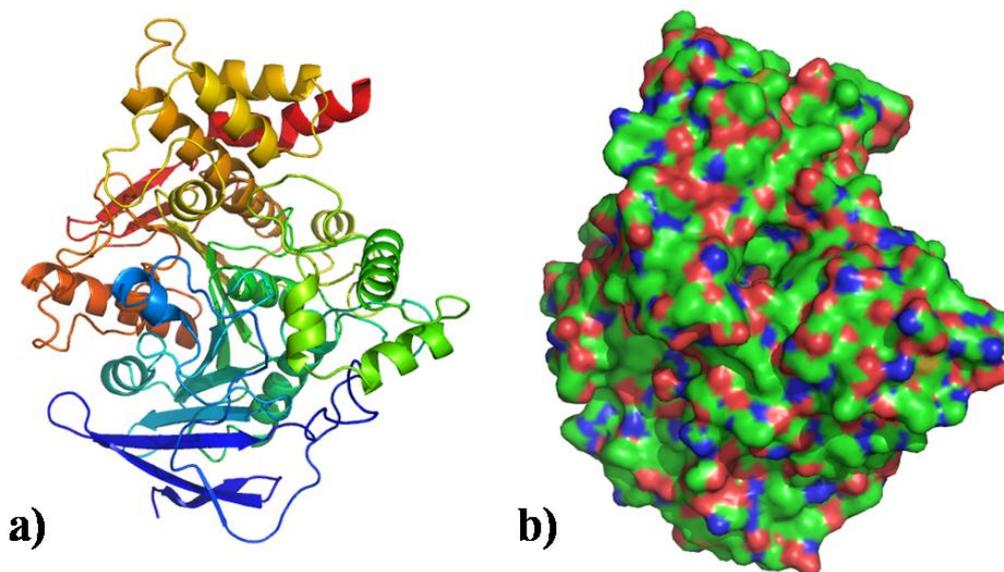
c) Inibição mista

Fonte: Nelson; Lehninger; Cox, 2002, adaptada.

4 ACETILCOLINESTERASE

A enzima acetilcolinesterase (AChE) (EC 3.1.1.7) (Figura 2) é uma enzima com atividade relacionada com a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) durante a sinapse colinérgica. A AChE, do ponto de vista mecanístico, é uma serina hidrolase (FERSHT, 1999; NELSON; LEHNINGER; COX, 2002).

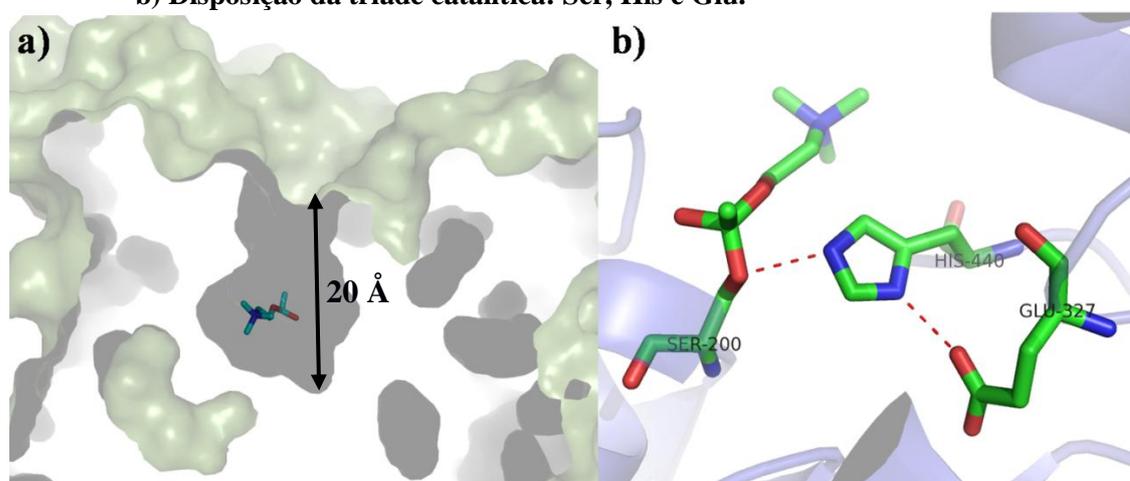
Figura 2 – Estrutura quaternária da acetilcolinesterase: a) Cartoon; b) Superfície.



Fonte: Autor, 2016.

A AChE apresenta sua unidade catalítica funcional no interior de uma cavidade de aproximadamente 20 Å de profundidade (Figura 3.a) (QUINN, 1987; SUSSMAN et al., 1991; HAREL et al., 1996). Esta unidade funcional é constituída por três resíduos de aminoácidos: Serina (Ser200), Histidina (His440) e Glutamato (Glu327) (Figura 3.b); estes resíduos são também denominados de tríade catalítica (QUINN, 1987; MILLARD; BROOMFIELD, 1995; HAREL et al., 1996). Esta tríade, como grupo funcional catalítico, é observada em outras serinas proteases, nela pode ocorrer pequenas variações como o Glutamato ou Aspartato (HEDSTROM, 2002). A enumeração dos resíduos de aminoácidos utilizados ao longo deste trabalho é referente à AChE da espécie *Torpedo californica*, depositada no *Protein Data Bank* (PDB), sob a identificação 2ACE (SUSSMAN et al., 1991).

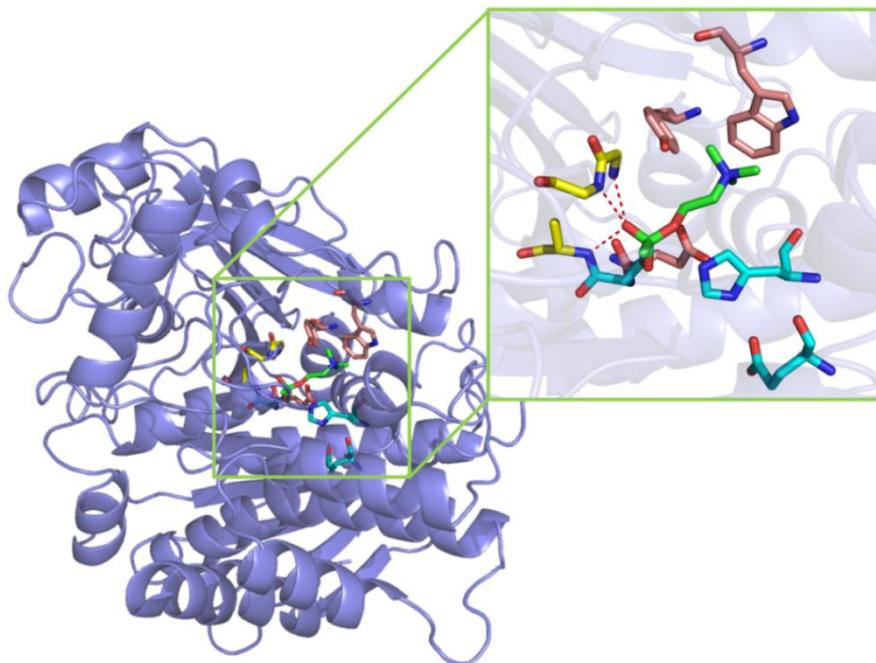
Figura 3 – a) Cavidade enzimática onde se localiza a unidade catalítica funcional da enzima; b) Disposição da tríade catalítica: Ser, His e Glu.



Fonte: Autor, 2016.

A determinação estrutural por métodos de difração de raios X foi quem possibilitou a apreciação do aduto enzima-substrato, fator principal à compreensão da atividade enzimática da AChE (SUSSMAN et al., 1991). A análise estrutural do aduto AChE-ACh mostrou regiões na cavidade enzimática que auxiliavam a estabilidade do sistema enzima-substrato: sítio oxiónico e sítio esterásico. O sítio oxiónico é formado pelos aminoácidos Gly118, Gly119 e Ala201, cuja finalidade é difundir a densidade eletrônica do átomo de oxigênio da carbonila do substrato natural. A difusão do excesso de densidade eletrônica do átomo de oxigênio ocorre por intermédio das interações entre este átomo e a parte NH dos aminoácidos citados. O sítio esterásico é a região funcional da enzima, também conhecida como tríade catalítica, que interage com o grupamento éster do substrato. A enzima apresenta uma região estabilizadora secundária, o subsítio aniônico. Esta região é constituída pelos aminoácidos Trp84, Tyr130 e Glu199, cuja função é interagir com a região catiônica da ACh, constituída pelo átomo de nitrogênio quaternário (Figura 4).

Figura 4 – Resíduos de aminoácidos interagentes com ACh na formação do aduto enzima-substrato. Em verde a ACh, em azul claro o sítio esterásico (tríade catalítica), em amarelo sítio oxiónico e em rosa o subsítio aniônico.



Fonte: Autor, 2016.

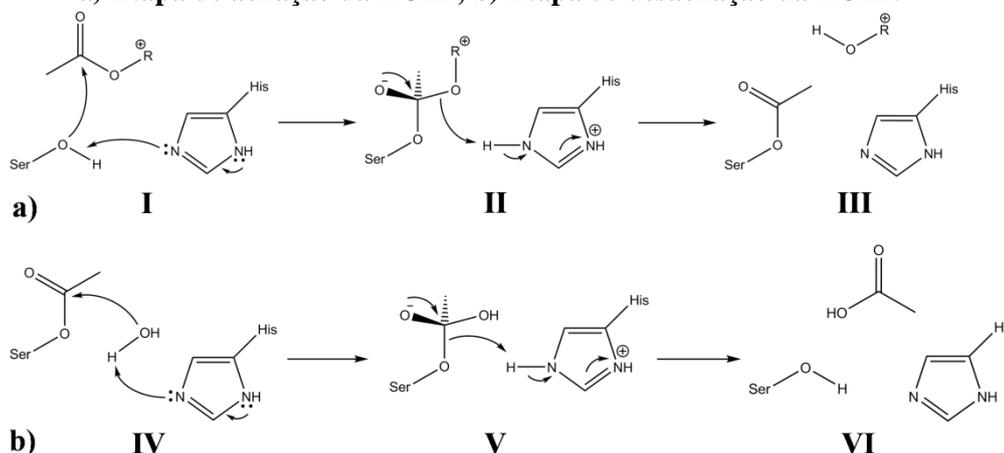
O caráter nucleofílico da AChE, como também das enzimas homólogas e outras proteases, é devido ao alinhamento de resíduos específicos de aminoácidos que constituem a tríade catalítica (Figura 3.a). Esta disposição geométrica da tríade catalítica resulta no aumento da nucleofilicidade do grupo terminal da serina, a hidroxila (FROEDE; WILSON, 1984; QUINN, 1987; SUSSMAN et al., 1991; HAREL et al., 1996; ZHOU; WANG; ZHANG, 2010).

4.1 Mecanismo da hidrólise da acetilcolina pela acetilcolinesterase

O mecanismo da hidrólise da ACh pela AChE é constituído por duas etapas: acetilação e desacetilação (Figura 5). A acetilação inicia-se com o ataque nucleofílico da hidroxila terminal da serina ao carbono da carbonila da ACh, facilitado pelas interações com o sítio oxiónico – passo **I**. Em seguida, o grupo lábel da ACh (colina desprotonada) captura o próton do anel imidazólico restituindo a integridade eletrônica da histidina e libera a colina no meio – passo **II** e **III**. A etapa de acetilação resulta na forma acetilada da AChE (Ac-AChE). A segunda etapa consiste na desacetilação da Ac-AChE, iniciada pelo ataque nucleofílico de uma molécula de água “ativada” pelo nitrogênio básico do anel imidazólico da histidina – passo **IV**. Em seguida, o grupo lábel da Ac-AChE (AcOO^-) captura o próton do anel imidazólico e

restitui a integridade eletrônica da histidina, resultando na liberação do ácido acético – passo V e VI. Ao final da etapa da desacilação, a AChE é restaurada.

Figura 5 – Esquema do mecanismo da hidrólise da ACh pela AChE com os principais passos: a) Etapa de acilação da AChE; b) Etapa de desacilação da AChE.



Fonte: Zhou, Wang, Zhang, 2010, adaptada.

4.2 Acetilcolinesterase e a relação com doenças neurodegenerativas

Devido a importância da função da AChE, o desenvolvimento de compostos com atividade anti-colinérgicos (anti-AChE) desencadeou grande interesse da indústria farmacêutica. Os inibidores da AChE são importantes no controle de doenças relacionadas com a sinapse colinérgica, pois a inibição da AChE aumenta a concentração de ACh na fenda sináptica, elevando assim, a disponibilidade deste nos receptores (PATRICK; LINDSTROM, 1973; COYLE; PRICE; DELONG, 1983; FROEDE; WILSON, 1984; ABRAMSON et al., 1989; ENZ et al., 1993; HAREL et al., 1993; RAVES et al., 1997; KEESEY, 1998; GIACOBINI, 2000; DOUCET-PERSONENI et al., 2001; RYDBERG et al., 2006; NEPOVIMOVA et al., 2014; POLITIS, 2014).

Entretanto, os primeiros estudos e síntese de compostos anti-AChE culminaram na descoberta de substâncias nocivas derivadas de organofosfatos e carbamatos. Estes compostos desativava a AChE pela formação dos ésteres de fosfato e carboxilato. Diante disso, a utilização de anti-AChE para fins terapêuticos não pode desativar permanentemente a AChE. Isto é, a inibição tem que ser reversível (SOREQ; SEIDMAN, 2001; GUPTA, 2006; 2015).

Como exemplo de doenças neurodegenerativas relacionadas com a mediação de ACh, pode-se citar:

- i. A Doença de Alzheimer (DA) é caracterizada pela atrofia do córtex cerebral e diminuição da sensibilidade dos neurônios colinérgicos no cérebro (COYLE; PRICE; DELONG, 1983; BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). Isto se deve a presença de placas neuríticas, também conhecidas como placas amilóides, que impedem a ação catalítica da AChE (MATTSON, 2004; MCKHANN et al., 2011). O indício do desequilíbrio da AChE na neurodegeneração causada pela DA é a formação das estruturas de β -amilóide-AChE, pois esta estrutura é mais neurotóxica do que os β -amilóides sozinhos (ALVAREZ et al., 1998). O aumento na expressão da proteína de β -amilóide é acompanhado pelo aumento dos níveis de AChE (SBERNA et al., 1998);
- ii. A Miastenia Gravis (MG) é uma doença neuromuscular caracterizada pela perda do tônus e fadiga do músculo esquelético (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012). A disfunção é ocasionada pela redução do número de receptores nicotínicos ocasionado pelo sistema imunológico do próprio indivíduo (FAMBROUGH; DRACHMAN; SATYAMURTI, 1973; PATRICK; LINDSTROM, 1973; LINDSTROM et al., 1998). Estudos sugerem que disfunções no sistema muscular esquelético está associada com alterações nas propriedades da AChE na junção neuromuscular (LINDSTROM et al., 1998; OHNO et al., 2000). O tratamento padrão da MG inclui a administração de inibidores da AChE ao longo da vida. Entretanto, o uso de inibidores da AChE acarreta uma pronunciada fraqueza muscular e paralisia respiratória devido ao excesso de ACh (crise colinérgica). Isto indica os potenciais efeitos do uso prolongado de substâncias anti-AChE (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

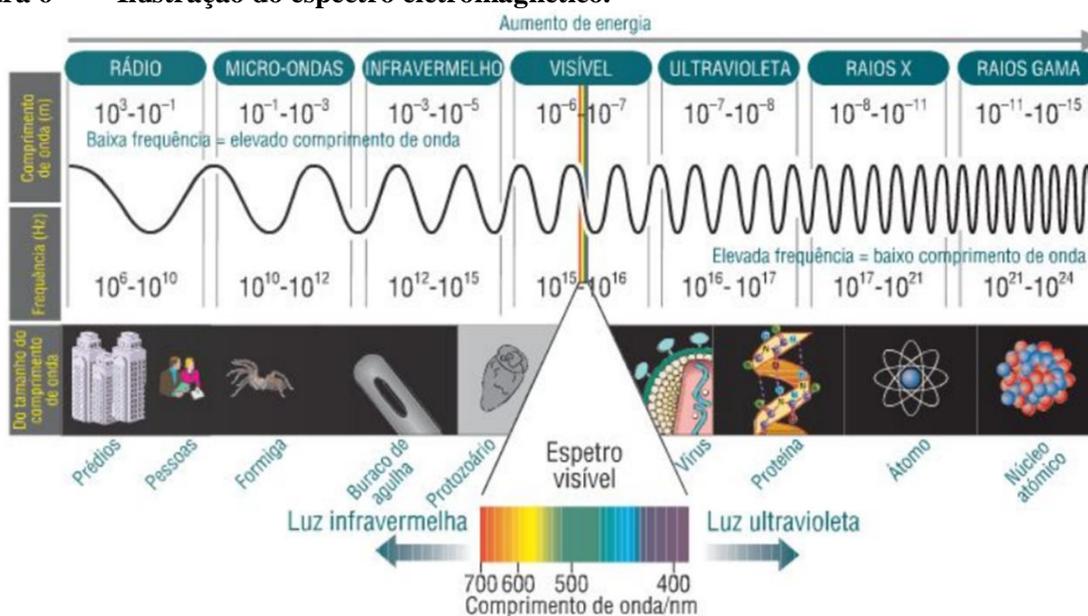
5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A organização da matéria sempre intrigou a mente humana. Entretanto, a análise da estrutura da matéria somente foi possível no final do século XIX com o início dos estudos da interação da matéria com a energia – a espectroscopia (EISBERG; RESNICK, 1979). Uma das técnicas mais utilizadas para a determinação estrutural é a difração de raios X. Tal técnica é baseada na interação de elétrons com a radiação mencionada, resultando em padrões de difração específicos para cada amostra submetida ao método físico aqui considerado. Com os resultados experimentais constroem-se mapas de densidade eletrônica e, através da análise dos mesmos, tenta-se elaborar o modelo estrutural para a substância em estudo.

5.1 Raios X

Raios X são radiações eletromagnéticas da mesma natureza que a luz visível, diferindo desta por possuírem um comprimento de onda bem menor, ou seja, são dotados de alta energia e, por isso, atravessam corpos considerados opacos para a primeira radiação mencionada. Foram descobertos em 1895, pelo físico alemão Wilhelm Conrad Roentgen quando este desenvolvia experimentos utilizando um tubo de raios catódicos. A Figura 6 mostra a posição do comprimento de onda dos raios X em relação às demais radiações constituintes no espectro eletromagnético.

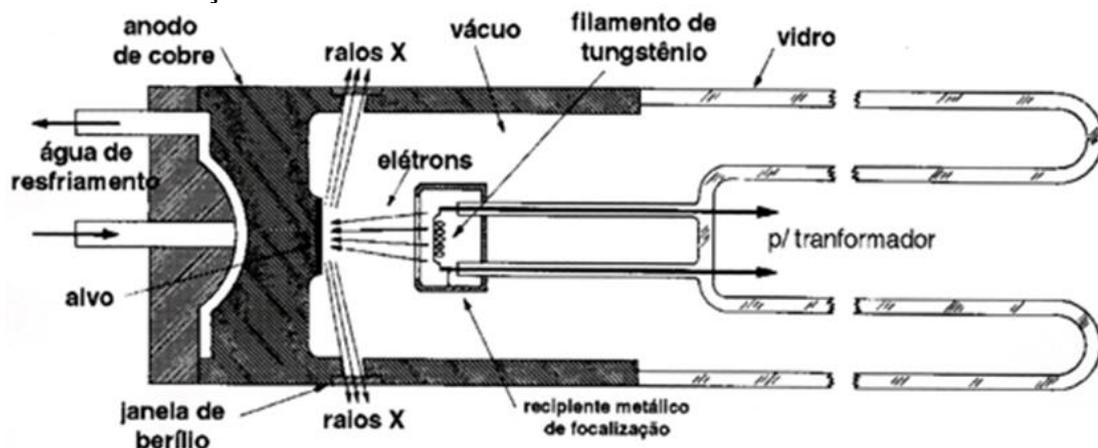
Figura 6 – Ilustração do espectro eletromagnético.



Fonte: <<http://naciin-kosta.blogspot.com.br/>>. Acessado em: 24/03/2016.

Os raios X são produzidos quando elétrons provenientes de um cátodo e providos de energia cinética bastante elevada são direcionados a uma placa metálica (ânodo). A energia envolvida em tal choque é convertida em sua maior parte (em torno de 98%) em calor, ou seja, apenas uma pequeníssima fração da energia incidente no ânodo é transformada em raios X. Dessa forma, há necessidade de uma fonte de refrigeração para dissipar todo esse calor. O ambiente onde ocorre a produção dos raios mencionados é denominado tubos de raios X e está ilustrado na Figura 7.

Figura 7 – Ilustração do tubo de raios X.

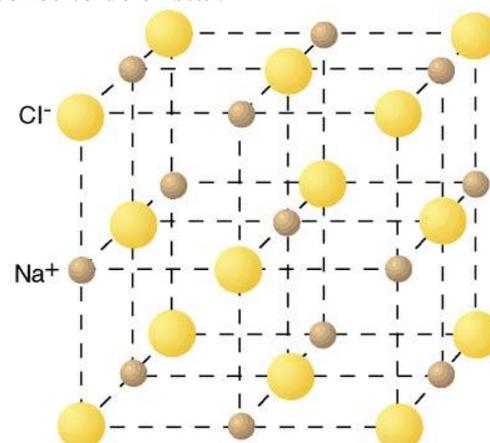


Fonte: Cullity, Stock, 2001.

5.2 Cristal

Cristal (Figura 8) é todo sólido que apresenta um arranjo interno ordenado, independente do mesmo ser transparente ou limitado por faces planas e bem definidas (definições anteriores para cristal).

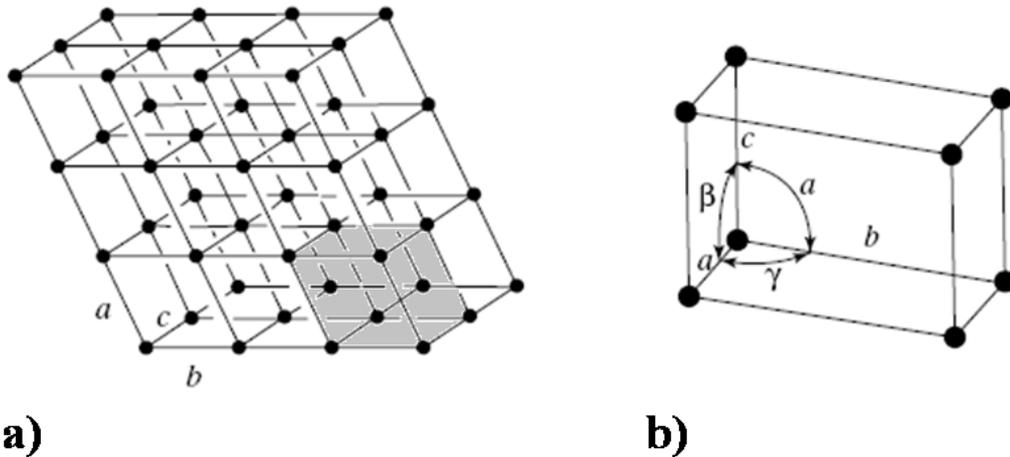
Figura 8 – Ilustração do conceito de cristal.



Fonte: <[http://www.infopedia.pt/\\$cloreto-de-sodio](http://www.infopedia.pt/$cloreto-de-sodio)>. Acessado em: 24/03/2016.

A definição de cristal permite que o mesmo seja representado por uma rede tridimensional que no caso é denominada de retículo cristalino – como mostrado na Figura 9. Em tal figura é possível observar uma pequena porção – área hachurada – que transladada em todas as direções gera o retículo como um todo. Tal porção é conhecida na literatura específica como cela unitária (Figura 9.b)

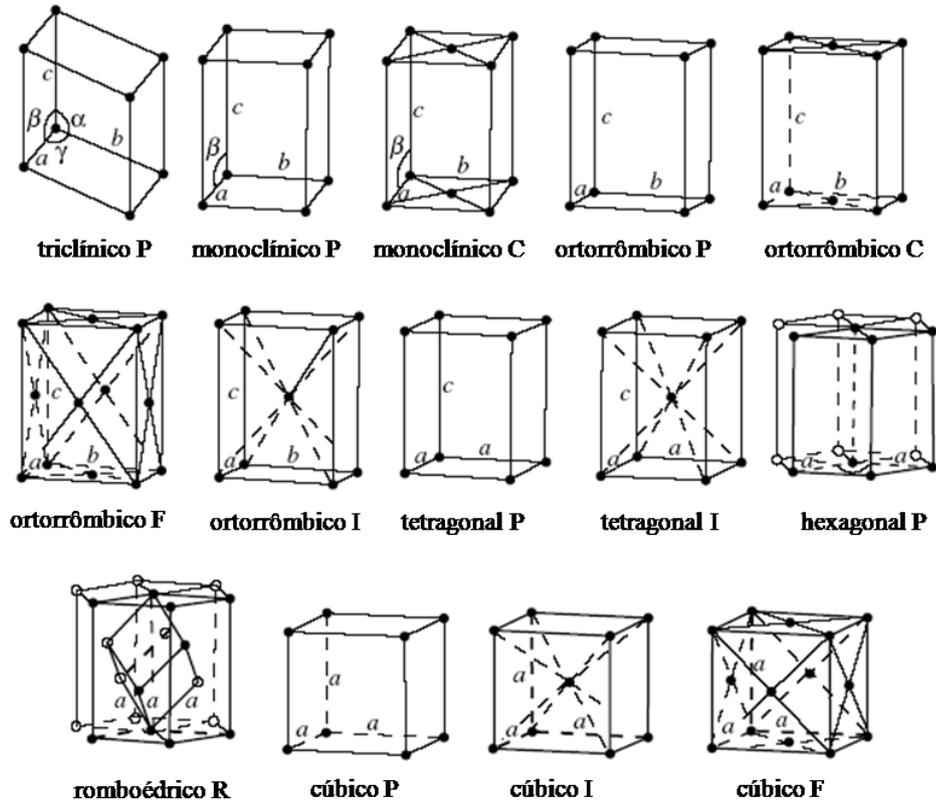
Figura 9 – a) Retículo cristalino; b) Cela unitária.



Fonte: Li, Zhou, Mak, 2008, adaptada.

A cela unitária é caracterizada por três parâmetros lineares (a , b e c) e três parâmetros angulares (α , β e γ) chamados de parâmetros cristalográficos. A variação em tais parâmetros possibilita a construção de sete retículos diferentes denominados de sistemas cristalinos. Tais sistemas também podem variar em seu conteúdo e com tal consideração é possível construir 14 retículos diferentes ilustrados na Figura 10 e designados como Retículos de Bravais (WARREN, 1990; CULLITY; STOCK, 2001; ZACHARIASEN, 2004; LI; ZHOU; MAK, 2008).

Figura 10 – Os 14 retículos de Bravais.



Fonte: Li, Zhou, Mak, 2008, adaptada.

As letras, colocadas ao lado do nome do retículo, designam as variações do conteúdo da cela unitária: **P** → cela com pontos apenas nos vértices; **I** → cela com pontos nos vértices e centro da mesma; **C** → cela com pontos nos vértices e num par de faces da mesma; **F** → cela com pontos nos vértices e em todas as faces da mesma; **R** → variação da cela cúbica.

5.3 Difração de raios X

Um feixe de raios X é difratado por uma amostra cristalina quando o comprimento da radiação utilizada (λ), o ângulo de incidência de tal radiação na amostra considerada (θ) e a distância interplanar da mesma (d), juntamente com um conjunto de números inteiros (n), obedecem a uma relação designada por lei de Bragg,

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (1)$$

Na verdade, existe uma equação deste tipo para cada uma das três direções do cristal. O conjunto de tais equações é denominado de **Equações de Laue**.

$$a(\cos \psi_1 - \cos \varphi_1) = h\lambda \quad (2)$$

$$b(\cos \psi_2 - \cos \varphi_2) = k\lambda \quad (3)$$

$$c(\cos \psi_3 - \cos \varphi_3) = l\lambda \quad (4)$$

sendo, **a**, **b** e **c** parâmetros da cela unitária; ψ e φ ângulos de incidência e reflexão, respectivamente, que a radiação faz com a amostra cristalina; h , k , l definem uma dada direção cristalina; λ o comprimento de onda da radiação incidente.

5.3.1 Fator de espalhamento atômico (f)

Quando a radiação X incide sobre uma amostra mono ou policristalina, os elétrons, por serem bem mais leves que o núcleo do átomo, iniciam um movimento de espalhar tal radiação. Por esta razão é definido o poder de espalhamento do átomo – fator de espalhamento atômico (f) – que depende do número de elétrons do átomo, da radiação utilizada (λ), do ângulo de incidência de tal radiação ($\sin \theta$), assim:

$$f_o \propto Z \frac{\sin \theta}{\lambda} \quad (5)$$

A equação 5 pressupõe que o átomo seja um sistema estacionário. No entanto, ele vibra em torno de uma posição de equilíbrio e com valores diferentes em distintas direções. A elevação da temperatura aumenta a vibração atômica, levando a uma ampliação do volume da nuvem eletrônica, causando uma diminuição rápida do fator de espalhamento do átomo real em relação ao fator de espalhamento do modelo do átomo estacionário. Com tais considerações, o fator de espalhamento atômico (WARREN, 1990; ZACHARIASEN, 2004), ilustrado na Figura 11, é definido por:

$$f = f_o \exp\left(-B \frac{\sin^2 \theta}{\lambda^2}\right) \quad (6)$$

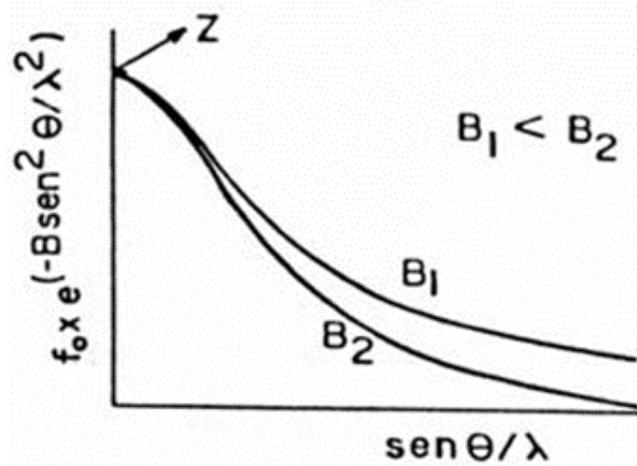
e,

$$B = 8\pi^2 u^2 \quad (7)$$

sendo, f_o , fator de espalhamento de um átomo estacionário isolado; Z , número atômico da

amostra em estudo; λ , comprimento de onda da radiação incidente; θ , ângulo que a radiação incidente faz com a amostra cristalina; e, u^2 , amplitude quadrática média de vibração atômica.

Figura 11 – Curvas típicas de fatores de espalhamento atômico.



Fonte: Cullity, Stock, 2001.

5.3.2 Fator de estrutura (F)

Se do ponto de vista atômico as unidades espalhadoras dos raios X são os elétrons, do ponto de vista estrutural seria melhor tomar os átomos como tais unidades, uma vez que se busca determinar as posições que estes ocupam em relação às dimensões da cela unitária. Com tal consideração é definido o fator de estrutura – F – que é a resultante das i -ésimas ondas espalhadas pelos i -ésimos átomos da cela unitária numa dada direção designada por hkl (WARREN, 1990; ZACHARIASEN, 2004), definido por:

$$F_{hkl} = \sum_i^n f_n \exp[2\pi i(hu_n + hv_n + hw_n)] \quad (8)$$

sendo, F_{hkl} , fator de estrutura; f_N , fator de espalhamento atômico; u, v, w coordenadas fracionárias ($x/a, y/b, z/c$); e, h, k, l números inteiros.

5.4 Densidade eletrônica

Dois comentários feitos ao longo deste texto foram: i) os cristais se caracterizam por possuírem uma ordem interna que se estendem ao longo do retículo; ii) as unidades espalhadoras dos raios X são os elétrons. Como consequência destes dois fatos é possível

afirmar que a densidade eletrônica de uma substância cristalina é periódica e contínua. Isto implica que ela pode ser representada por uma série de Fourier representada na equação 9.

$$\rho_{uvw} = \frac{1}{V} \sum_{h=-\infty}^{+\infty} \sum_{k=-\infty}^{+\infty} \sum_{l=-\infty}^{+\infty} F_{hkl} \exp(i\phi_{hkl}) \exp[-2\pi i(hu_n + hv_n + hw_n)] \quad (9)$$

Sendo, ρ_{uvw} , densidade eletrônica do cristal; V , Volume da cela unitária; h, k, l , números inteiros que definem uma direção no cristal; F_{hkl} , fator de estrutura; ϕ_{hkl} , fase do feixe de raios X difratado na direção \mathbf{hkl} ; e, u, v, w , coordenadas atômicas fracionárias ($x/a, y/b, z/c$).

Através do mapa de densidade eletrônica descrito pela equação 9 e, baseado em distâncias e ângulos interatômicos, tenta-se construir um modelo estrutural para a substância em estudo. Existem situações em que todos os átomos constituintes da amostra são identificados. Porém, em muitos casos, apenas um fragmento da molécula é identificado neste mapa. Quando isto acontece, subtrai-se da densidade total os picos correspondentes aos átomos do fragmento mencionado. De posse da densidade residual tenta-se identificar o resto da molécula ou, pelo menos, mais outro fragmento. Em outras palavras, passa-se a trabalhar com diferenças de densidade dada por:

$$\Delta\rho = \frac{1}{V} - \sum_{h=-\infty}^{+\infty} \sum_{k=-\infty}^{+\infty} \sum_{l=-\infty}^{+\infty} (|F_o| - |F_c|) \exp(i\phi_c) \exp[-2\pi i(hu_n + hv_n + hw_n)] \quad (10)$$

sendo, $\Delta\rho$, diferença de densidade eletrônica no cristal; F_o , fator de estrutura observado (definido pelos dados experimentais); F_c , fator de estrutura calculado (definido pelo fragmento identificado); e, ϕ_c , fase fator de estrutura calculado. O emprego da diferença de densidade é repetido tantas vezes quantas forem necessárias, ou seja, até que todos os átomos constituintes da amostra em estudo tenham sido identificados.

A cada conjunto de átomos identificados é verificada a consistência entre o modelo descrito pelos dados experimentais (F_o) e o modelo oriundo da interpretação, pelo pesquisador (F_c), da densidade eletrônica. Isso pode ser feito utilizando-se da equação 11 definida por:

$$R_{obs} = \frac{\sum (k|F_o| - |F_c|)}{\sum k|F_o|} \quad (11)$$

sendo, R , índice de discordância entre o modelo estrutural real e o proposto; k , sistema de pesos (permite que as reflexões mais fortes tenham uma contribuição maior). Valores de R menor ou igual 0,05 (5%), portanto na ordem do erro experimental, são os desejáveis para o trabalho de determinação estrutural utilizando raios X em amostras monocristalinas.

6 ESTRUTURA ELETRÔNICA

A gênese da compreensão da relação entre a matéria e a energia se deve ao revolucionário trabalho do físico alemão Max Planck (PLANCK, 1901) e a culminância se deu com o trabalho do físico austríaco Erwin Schrödinger quando considerou o comportamento eletrônico do átomo de hidrogênio à luz da ondulatória (SCHRÖDINGER, 1926). Mas, este tratamento limitava-se a átomos hidrogenóides (átomos monoelétrônicos). A aplicação deste modelo em sistemas reais (sistemas atômicos multieletrônicos) apresenta certa dificuldade (EISBERG; RESNICK, 1979). Isto se deve pela presença de interações entre os vários centros interagentes (partículas) que constitui o sistema.

Para um sistema multieletrônico, o Hamiltoniano, em unidade atômica, toma a seguinte forma:

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^M \sum_{A>B}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad (12)$$

sendo, M_A , massa reduzida (relação entre a massa do núcleo A e da massa de um elétron); Z_A , massa atômica do núcleo, A. O primeiro termo na equação 12 se refere ao operador energia cinética dos elétrons; o segundo se refere ao operador da energia cinética dos núcleos; o terceiro termo é a atração coulômbica entre elétrons e núcleos; e, o quarto e quinto termos são a repulsão coulômbica entre os elétrons e núcleos, respectivamente. A função de onda para estados multieletrônicos é dependente das coordenadas espaciais dos elétrons e núcleos (SZABO; OSTLUND, 1989; COOK, 2005).

Em uma construção mais simples, o tratamento mecânico ondulatorio preocupa-se em resolver o problema da minimização da energia com independência temporal do estado fundamental de um sistema eletrônico a partir da aproximação de Born-Oppenheimer (BORN; OPPENHEIMER, 1927). Assim, a Equação de Onda do sistema toma a forma:

$$\hat{H}_{el} \Psi_{el} = E_{el} \Psi_{el} \quad (13)$$

Aqui, o operador energia eletrônica, \hat{H}_{el} , é escrito como

$$\hat{H}_{el} = - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (14)$$

E,

$$\Psi_{el} = \Phi(\vec{r}_1 \vec{r}_2 \vec{r}_3 \dots \vec{r}_i; \vec{R}_1 \vec{R}_2 \vec{R}_3 \dots \vec{R}_A) \quad (15)$$

A minimização da energia do estado fundamental satisfaz o princípio variacional, ou seja,

$$E = \min_{\Psi \rightarrow N} E[\Psi] = \min_{\Psi \rightarrow N} \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle \quad (16)$$

Pelo fato do Hamiltoniano eletrônico ser exclusivamente dependente das coordenadas eletrônicas e do estado eletrônico não-relativístico ser completamente descrito a partir da introdução de duas funções de *spins* ($\alpha(\omega)$ e $\beta(\omega)$), a função de onda é reescrita com dependência das coordenadas espaciais e de *spin* e, como consequência, as funções de onda multieletrônicas apresentam uma relação de anti-simetria com respeito à troca de coordenadas de dois estados eletrônicos qualquer (SLATER, 1929). Na equação 17 a função de onda é escrita na forma determinantal.

$$\Phi_o = (N!)^{-1/2} \sum_{k=1}^{N!} (-1)^{p_k} \mathcal{P}_k \{ \chi_1(\mathbf{x}_1) \chi_2(\mathbf{x}_2) \chi_3(\mathbf{x}_3) \dots \chi_N(\mathbf{x}_N) \} \quad (17)$$

sendo, \mathcal{P}_i , o operador permutador da k -ésima permuta dos índices da j de \mathbf{x}_{ij} do determinante, p_i , o número de trocas dois-a-dois dos índices de \mathbf{x} até a sequência original 1,2,3,...,N da k -ésima permuta.

Originalmente, a resolução se inicia com a resolução da aproximação de Hartree-Fock (HF), onde a função de onda é aproximada por um único determinante de Slater de partículas com energia minimizada.

6.1 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

O conceito mais importante da química é o de densidade eletrônica, visto que esta define a matéria como ela é. Seja $\phi(r)$ uma função que descreve o comportamento eletrônico de uma única partícula, então, a densidade eletrônica é definida por $|\phi(r)|^2$. Desse modo, a densidade eletrônica é a probabilidade de encontrar elétrons em um dado volume de raio r . Assim, na DFT a energia do estado eletrônico fundamental é definida em termo da densidade eletrônica, $\rho(r)$, ao invés da função de onda, $\Psi(\vec{r})$.

O tratamento do funcional energia é anterior aos célebres trabalhos de Hohenberg, Sham e Kohn (HOHENBERG; KOHN, 1964; KOHN; SHAM, 1965). O uso da $\rho(r)$ na descrição do comportamento eletrônico remonta ao início do século XX com os trabalhos de Drude na descrição do transporte de propriedades eletrônicas em materiais metálicos (DRUDE, 1900a; b). Drude utilizou fundamentos da teoria cinética dos gases ao descrever a densidade eletrônica como um gás uniforme. Sommerfeld aprimorou este modelo, descrevendo-o a partir da distribuição quântica de Fermi-Dirac em vez da distribuição clássica de Maxwell-Boltzman. Thomas e Fermi, baseados em um modelo estatístico, consideraram um gás de elétrons como uma distribuição de um gás uniforme de partículas não-interagentes (THOMAS, 1927; FERMI, 1928). Assim, formularam um primeiro modelo de funcional de energia baseado na densidade eletrônica, E_{TF} ,

$$E_{TF} = \hat{T}_{TF} + \hat{V} + U \quad (18)$$

aqui o termo \hat{T}_{TF} é a representação da densidade de energia cinética para o sistema, que é definido como $\frac{3}{10}(3\pi^2)^{2/3} \int \rho(r)^{5/3}$. \hat{V} é o termo que representa o potencial de uma única partícula acoplado à densidade desta partícula e é definido como $\int \rho(r)v(r)dr$. U é o termo de repulsão eletrônica aproximado pelo potencial eletrostático clássico da densidade de carga, denominado de Energia de Hartree, e definido como $\frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1-r_2|} dr_1 dr_2$.

Uma correção deste modelo para um sistema de partículas interagentes foi dada por Dirac, quando adicionou ao funcional de energia de Thomas-Fermi o termo de energia de troca, E_χ , definido por $\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \int \rho(r)^{4/3} dr$ (DIRAC, 1930). Assim, o funcional de energia

completo é,

$$E_{TFD}[\rho] = \hat{T}_{TF} + \hat{V} + U - E_{\chi} \quad (19)$$

6.1.1 Teoremas da DFT

Kohn e Hohenberg aprimoraram o funcional energia a partir do princípio variacional para a determinação exata da energia no estado fundamental de um sistema eletrônico, mediante o parâmetro densidade (HOHENBERG; KOHN, 1964).

6.1.1.1 Primeiro Teorema

Todas as propriedades do sistema são determinadas pela densidade eletrônica (HOHENBERG; KOHN, 1964). Ou seja, $\rho(r)$ determina de forma direta o potencial externo e a forma do Hamiltoniano e, conseqüentemente, a energia total do sistema. Assim, o funcional energia é reescrito,

$$E_o = E_v[\rho] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{el} | \Psi \rangle + \int \rho(r) v(r) dr \quad (20)$$

Desta forma o potencial externo, agora separado do Hamiltoniano, é um funcional único da densidade e uma constante aditiva.

6.1.1.2 Segundo Teorema

Devido ao fato dos operadores energia cinética e repulsão eletrônica serem os mesmos para qualquer sistema multieletrônico, define-se, assim, um potencial universal, $F[\rho]$, tal que

$$F[\rho] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{el} | \Psi \rangle \quad (21)$$

Como o potencial externo é constante e um funcional de $\rho(r)$, toda aproximação da densidade $\rho'(r)$ além de definir seu próprio $v'(r)$ também determina \hat{H}' e Ψ' . Entretanto é

necessário assegurar que esta função tentativa determine um potencial externo verdadeiro (v -representatividade) e que represente tridimensionalmente uma função de onda antissimétrica (N -representividade), pois representa uma função de onda de muitos corpos antissimétricos. Destarte, a construção de $\rho'(r)$ deve satisfazer as seguintes condições (GILBERT, 1975; LEVY, 1979; 1982; LEVY; PERDEW, 1985):

$$\rho'(r) \geq 0 \quad (22)$$

$$\int \rho'(r) dr = N \quad (23)$$

$$\int |\nabla \rho(r)|^2 dr < \infty \quad (24)$$

$$F[\rho] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{el} | \Psi \rangle = \min_{\Psi} \{ \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{el} | \Psi \rangle \} \quad (25)$$

Pelo princípio variacional, juntamente com o fato da função Ψ' ser uma aproximação para determinar $v(r)$ e E_v ser um funcional energia total definido pelo potencial externo $v(r)$, a energia total no estado fundamental é:

$$E_o = E_v[\rho] = F[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \leq E_v[\rho'] = F[\rho'] + \int \rho'(r)v(r)dr \quad (26)$$

Portanto, o problema da minimização da energia do sistema no estado fundamental consiste em encontrar uma função eletrônica onde o funcional universal é mínimo,

$$E = \min_{\rho} \left\{ F[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \right\} = \min_{\rho} E_v[\rho] \quad (27)$$

6.1.2 Equação de Kohn-Sham

Baseados nos teoremas de Hohenberg e Kohn, Kohn e Sham desenvolveram um modelo para determinar a densidade eletrônica de um sistema de partículas interagentes a partir de um modelo de gás de elétrons não-interagentes (KOHN; SHAM, 1965). Para tal Kohn e Sham definiram um novo funcional universal $G[\rho]$,

$$G[\rho] = T_{NI}[\rho] + E_{XC}[\rho] \quad (28)$$

sendo, $T_{NI}[\rho]$ o funcional energia cinética de um sistema de elétrons não-interagentes³ e $E_{XC}[\rho]$ o termo não-clássico de troca e correlação eletrônica com contribuição residual da energia total de um sistema de partículas residuais ($T_t[\rho]-T_{NI}[\rho]$).

O funcional energia agora é reescrito com o termo repulsivo explícito,

$$E_v[\rho] = G[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + \int \rho(r)v(r)dr \quad (29)$$

Esta construção era condizente com o princípio de partículas fermiônicas e, semelhantemente a teoria HF, uma aproximação determinantal é usada para representar a função de orbitais de Kohn-Sham,

$$\Psi^{KS} = \frac{1}{\sqrt{N!}} \sum_{i=1}^{N!} (-1)^{p_i} \mathcal{P}_i \{ \phi_1^{KS}(\mathbf{r}_1) \phi_2^{KS}(\mathbf{r}_2) \phi_3^{KS}(\mathbf{r}_3) \dots \phi_N^{KS}(\mathbf{r}_N) \} \quad (30)$$

Esta função multieletrônica é construída de forma a satisfazer a Equação de Schrödinger. O ajuste da densidade eletrônica definida por Ψ^{KS} com a densidade eletrônica no estado fundamental se deve a um potencial efetivo adequado, construído mediante a minimização da equação 18, cujo potencial é definido pela equação 31.

$$v_{ef}(r) = v(r) + \int \frac{\rho(r_1)}{|r - r_1|} dr_1 + v_{XC}(r) \quad (31)$$

³Este sistema é construído de forma tal que apresenta a densidade eletrônica igual à densidade eletrônica de um sistema de partículas interagentes no estado fundamental com mesmo número de partículas.

e,

$$v_{XC}(r) = \frac{\delta E_{XC}[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (32)$$

Assim, estas condições explicita o caráter auto-consistente do teorema de Kohn e Sham – KS-SCF. Isto, em princípio, faz com que seja uma metodologia formalmente exata na descrição da densidade eletrônica real no estado fundamental. Entretanto, a densidade eletrônica definida por Ψ^{KS} apresenta dependência monoelétrica (hidrogenóide) em sua derivação, implicando uma construção aproximada para o potencial de troca e correlação. A derivação monoelétrica faz com que o potencial apresente um domínio fortemente ligado a uma vizinhança de r (PARR, 1989).

6.2 Análise da densidade eletrônica segundo o modelo de Orbitais Naturais de Ligação (NBO)

A densidade eletrônica é uma propriedade física da matéria e determina suas propriedades. Por isso, tem-se dado muita atenção para o entendimento das interações entre os átomos na molécula (ESPINOSA; MOLINS; LECOMTE, 1998; KORITSANSZKY; COPPENS, 2001; FLAIG et al., 2002).

A resolução da Equação de Onda fornece informação acerca do comportamento de um elétron imerso no campo potencial resultante das demais partículas, esta resolução é denominada de função de onda. Com isso, define regiões permitidas à acomodação do elétron, denominadas de Orbitais Atômicos (do inglês *Atomic Orbitals* – AO). Em uma molécula, a função de onda que descreve o comportamento da densidade eletrônica é obtida por meio da localidade média da densidade eletrônica a partir da Combinação Linear dos Orbitais Atômicos (do inglês *Linear Combination of Atomic Orbitals* – LCAO),

$$\psi_i(\mathbf{r}) = \sum_{l=1}^N C_{li} \phi_l(\mathbf{r}) \quad (33)$$

sendo, o termo C_{li} o coeficiente de participação do l -ésimo orbital atômico que compõe da o i -ésimo orbital molecular.

Deste modo, o problema da descrição da distribuição de carga na molécula consiste em encontrar a melhor entidade matricial que define tal distribuição; este descritor é denominado de Matriz Densidade. Pelo teorema a ortogonalidade, a densidade eletrônica é definida pelos coeficientes de participação de cada orbital atômico participante (SZABO; OSTLUND, 1989). De uma forma geral, as teorias de HF e a DFT apresentam esta construção matemática na descrição aproximada de sistemas reais. Entretanto, esta construção não é completa para a descrição do comportamento real de ρ , visto que o domínio é restrito à vizinhança próxima ao núcleo atômico; ou seja, é uma descrição local de ρ (PARR, 1989; SZABO; OSTLUND, 1989).

O problema da localidade de ρ na descrição químico-quântica da ligação química era aproximadamente corrigido por parâmetros que levava em consideração a correlação eletrônica de longo alcance (efeito de deslocalização eletrônica) (HUND, 1926; HEITLER; LONDON, 1927; MULLIKEN, 1928; PAULING, 1928; LENNARD-JONES, 1929; PAULING, 1931; PAULING; WHELAND, 1933; WHELAND; PAULING, 1935; BADER, 1994).

Na tentativa de representar tal propriedade inerente da molécula, surge o modelo de Orbitais Naturais de Ligação (do inglês *Natural Bonding Orbitals* – NBO) (WEINHOLD, 2012).

6.2.1 Orbitais naturais de ligação (NBO)

O modelo NBO foi desenvolvido como uma alternativa para o estudo do efeito da hibridização e do caráter covalente das funções de onda em sistemas poliatômico (REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988). Este método é um algoritmo matemático para a descrição da função de onda eletrônica da ligação química de Lewis. O conjunto de base do espaço NBO são os Orbitais Atômicos Naturais (do inglês *Natural Atomic Orbitals* – NAOs), $\{\phi_i^{(A)}\}$, oriundos dos Orbitais Atômicos (AO). Com isso, os NBOs contêm informações da variação da forma e tamanho da densidade eletrônica na ligação química (REED; WEINSTOCK; WEINHOLD, 1985; REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988; WEINHOLD, 2012).

Diante disso, após a transformação de AO para NAO, o operador Hamiltoniano monoelétrônico, seja do tipo de Fock (HF e Pós-HF) ou de Kohn-Sham (DFT), é reescrito e a

energia associada ao orbital $\phi_i^{(A)}$ toma a forma:

$$\epsilon_i^{(A)} = \langle \phi_i^{(A)} | \hat{H} | \phi_i^{(A)} \rangle \quad (34)$$

e,

$$\hat{H} = \sum_A \hat{h}^{(A)} + \hat{V}_{int} \quad (35)$$

sendo, o termo $\hat{h}^{(A)}$, o Hamiltoniano atômico efetivo e \hat{V}_{int} o potencial médio oriundo da contribuição dos átomos que compõem a molécula. Desse modo, correções perturbativas são incorporadas ao modelo, pois o termo $\hat{h}^{(A)}$ descreve as interações intra-atômicas e o termo \hat{V}_{int} as interações interatômicas (GLENDENING; LANDIS; WEINHOLD, 2012; WEINHOLD, 2012).

A distribuição de cargas sobre os centros atômicos também é definida com correções de deslocalização – Análise da População Natural (do inglês *Natural Population Analysis* – NPA). A população natural do orbital ($q_i^{(A)}$) e a carga atômica ($q^{(A)}$) são descritas pelas seguintes equações,

$$q_i^{(A)} = \langle \phi_i | \mathbf{D}^{(1)} | \phi_j \rangle \quad (36)$$

e,

$$q^{(A)} = Z_A - \sum_i q_i^{(A)} \quad (37)$$

sendo, $\mathbf{D}^{(1)}$ a matriz densidade reduzida de primeira ordem e Z_A o número atômico do átomo A. A NPA segue a restrição do princípio de Pauli e da aditividade das cargas para N elétrons, representados nas equações 38 e 39.

$$0 \leq q_i^{(A)} \leq 2 \quad (38)$$

$$\sum_{i,A} q_i^{(A)} = N \quad (39)$$

Estas condições asseguram três propriedades:

- i) Descrição completa para a localidade e transferência da carga entre os átomos (GLENDENING; LANDIS; WEINHOLD, 2012);
- ii) Atribuição de uma estabilidade numérica na extensão do conjunto de bases e na função de onda (SANNIGRAHI; NANDI; SCHLEYER, 1993);
- iii) Boa concordância com resultados experimentais da relação reatividade-estrutura (GROSS; SEYBOLD, 2000; CAREY; SUNDBERG, 2007).

Assim, as propriedades moleculares na abordagem NBO seguem a descrição das Estruturas Naturais de Lewis (do inglês *Natural Lewis Structure* – NLS) de ψ . As estruturas NLS são representadas pelas estruturas eletrônicas locais de domínio de 1 centro (1c) (pares de elétrons \mathbf{n}), de 2 centros (2c) (ligação química), denominadas de NBO do tipo de Lewis (L-NBO), e pelos efeitos de deslocalização residual de ressonância, denominados de NBO do tipo não-Lewis (nL-NBO) (GLENDENING; LANDIS; WEINHOLD, 2012; WEINHOLD, 2012). Sendo assim, o modelo NBO descreve a interação entre os átomos **A** e **B** por um conjunto de bases de ligações localizadas. A ligação localizada σ , por exemplo, é descrita por

$$\sigma_{AB} = c_A \varphi_A + c_B \varphi_B \quad (40)$$

sendo os termos φ_A e φ_B que forma o conjunto de Orbitais Híbridos Naturais (do inglês *Natural Hybrid Orbitals* – NHO). Cada NHO é construído a partir de um conjunto de orbitais atômicos da camada de valência, denominados de Orbitais Atômicos Naturais (do inglês *Natural Atomic Orbitals* – NAO). Os NAO são construídos segundo o princípio da ortonormalidade e máxima ocupância que proporciona boa descrição dos efeitos de hibridização e polarização na representação da ligação química (LÖWDIN, 1955; REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988). Entretanto apresentam uma dependência do conjunto de base na geração dos AO.

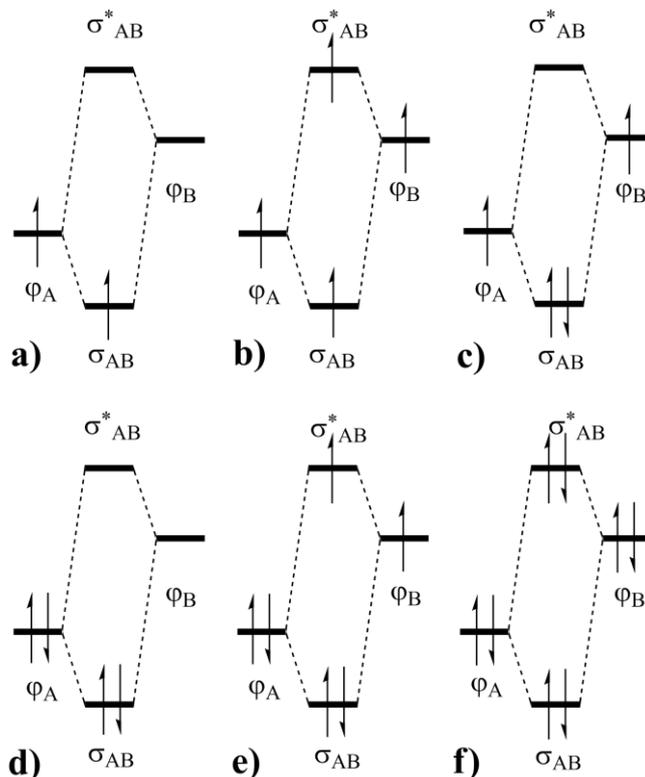
A transformação do espaço NHO, cujos autovetores são os φ_A e φ_B , para o espaço NBO, tem como finalidade a conservação da ortonormalidade, define outro auto-orbital,

$$\sigma_{AB}^* = c_A \varphi_A - c_B \varphi_B \quad (41)$$

Agora o conjunto NBO formado apresenta dois subconjuntos de orbitais que contribuem para a estabilização do sistema em interações de 2c: orbitais ligantes, $\{\sigma_i\}$, e orbitais antiligantes, $\{\sigma_i^*\}$. Na descrição NLS, os orbitais ligantes contribuem para as estruturas de Lewis (L-NBO) e são os responsáveis majoritários para a população eletrônica. Enquanto, os orbitais antiligantes contribuem para as estruturas não-Lewis (nL-NBO) (REED; WEINSTOCK; WEINHOLD, 1985; REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988; GLENDENING; LANDIS; WEINHOLD, 2012; WEINHOLD, 2012).

Na Figura 12, estão representadas todas as configurações eletrônicas para as interações de 2c em uma molécula diatômica AB. Os diagramas de energia mostram que as interações **b** e **f** são energeticamente inviáveis para o sistema, pois para os estados estacionários os orbitais σ e σ^* apresentam módulos de energias iguais, ou seja, $\Delta E=0$. Nos outros estados eletrônicos para a interação 2c, o sistema apresenta uma contribuição de energia não nula: $2\Delta E$ (**c** e **d**) e ΔE (**a** e **e**). Dentre estes estados, as condições **c** e **d** são aquelas que mais contribuem para a estabilidade energética do sistema.

Figura 12 – Diagrama de energia das interações de 2c: a) Interação 2c/1e; b) interação 2c/2e para estado excitado (elétrons desemparelhados); c) interação 2c/2e (ligação covalente); d) interação 2c/2e (ligação covalente do tipo ácido-base); e) interação 2c/3e; f) interação 2c/4e.



Fonte: Weinhold, 2012, adaptada.

6.2.2 Interação doador-aceptor (Deslocalização Eletrônica)

Os NBOs descrevem a molécula como um conjunto de orbitais com densidade eletrônica localizada $\{\sigma_i\}$, e outro conjunto de orbitais susceptíveis a transição da densidade eletrônica $\{\sigma_i^*\}$. Associado a estes conjuntos é observado um conjunto de autovalores: $\{\epsilon_i\}$ e $\{\epsilon_i^*\}$, respectivamente. Diante disso, a energia NBO total do sistema $E^{(T)}$ é composta pelos termos energéticos covalente E_L e não-covalente E_{NL} . (REED; WEINHOLD, 1985; REED; WEINSTOCK; WEINHOLD, 1985; CARPENTER; WEINHOLD, 1988; REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988).

A interação de um orbital doador (L-NBO) com um orbital acceptor (nL-NBO) acrescenta ao sistema uma estabilização energética adicional por causa da deslocalização da densidade eletrônica do L-NBO (cheio) para o nL-NBO (vazio)⁴. Esta estabilização é aproximada por um tratamento perturbativo de segunda-ordem à energia total da interação (REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988; WEINHOLD, 2012). Segundo a teoria perturbativa, a estabilização eletrônica de transferência eletrônica $\sigma_i \rightarrow \sigma_j^*$ é aproximada pela expressão

$$\Delta E_{i \rightarrow j^*}^{(2)} \approx -2 \frac{\left\langle \sigma_i^{(o)} \left| \hat{H} \right| \sigma_j^{*(o)} \right\rangle^2}{\epsilon_{j^*}^{(o)} - \epsilon_i^{(o)}} \quad (42)$$

sendo, \hat{H} o operador de Fock ou de Kohn-Sham; $\epsilon_i^{(o)}$ a energia NBO associada ao orbital doador não-perturbado $\sigma_i^{(o)}$; $\epsilon_{j^*}^{(o)}$ a energia NBO associada ao orbital acceptor não-perturbado $\sigma_j^{*(o)}$ (WEINHOLD, 2012). O modelo perturbativo permite uma descrição quantitativa da energia de deslocalização eletrônica (energia não-covalente).

6.3 Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (QTAIM)

O entendimento da organização intrínseca da matéria e a maneira como interage são os objetivos principais tanto da física quanto da química (BADER, 1991), visto que mudanças estruturais e organizacionais resultam em propriedades distintas para a matéria (GILLESPIE; POPELIER, 2001; BERNSTEIN, 2002; HILFIKER, 2006). Assim, observa-se uma relação entre geometria e estrutura molecular para um conjunto de coordenadas nucleares \mathbf{X} ; sendo a

⁴ A população não-covalente na realidade é não-nula; entretanto, esta população é menor que 1%

geometria uma propriedade não-genérica e a estrutura molecular uma propriedade genérica. Isto se deve ao fato de dada estrutura molecular apresentar diversas geometrias dependente do estado eletrônico (GILLESPIE; POPELIER, 2001).

A relação geometria/estrutura molecular implica na definição física de dois elementos fundamentais:

- i. A existência de duas entidades físicas:
 - átomo físico (átomo isolado);
 - átomo químico (átomo agrupado em um sistema funcional);
- ii. A existência de uma rede de ligações químicas entre núcleos atômicos que apresentam entre si uma relação geométrica, tal que acima de um valor crítico já não se apresentam mais ligados.

Estes fatos demonstram que o átomo sofre a influência da vizinhança; e um agregado atômico forma uma “rede” que apresenta propriedades geométricas. Acarretando numa definição da matéria no espaço real, cujo conjunto de propriedades caracterizava uma topologia (GILLESPIE; POPELIER, 2001).

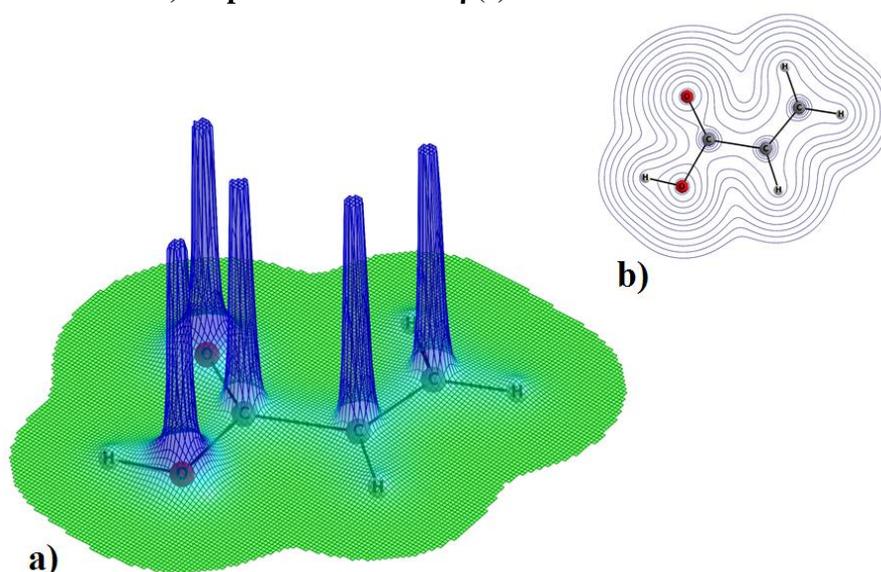
6.3.1 Topologia da densidade eletrônica

Bader desenvolveu uma teoria para analisar a estrutura eletrônica baseada no observável densidade eletrônica e na densidade de energia, à qual denominou de Teoria Quântica de Átomos em Moléculas (do inglês *Quantum Theory of Atoms in Molecules – QTAIM*) (BADER; NGUYEN-DANG; TAL, 1981; BADER, 1994). A QTAIM utiliza a densidade eletrônica como parâmetro quantum-mecânico para as integrais numéricas, de tal forma que o gradiente $\nabla\rho$ determina a topologia molecular e considera os átomos como um sistema de camada aberta (Ω) que, sob condições de contorno na superfície molecular $S(\Omega, r)$, define em qualquer ponto desta superfície um fluxo de densidade de carga nulo, ou seja, o gradiente $\nabla\rho$ é perpendicular ao vetor $n(r)$ normal à superfície $S(\Omega, r)$,

$$\nabla\rho \cdot n(r) = 0 \quad (43)$$

O conjunto dos vetores $\nabla\rho$ define um campo que descreve a variação da densidade em uma região específica do espaço. As linhas de contorno da densidade eletrônica são definidas a partir de um ponto no espaço denominado de atrator. Estes atratores são equivalentes aos núcleos atômicos, pois a densidade eletrônica em um sistema molecular é função da posição nuclear. O átomo, segundo a QTAIM, é definido pelo termo Ω e a topologia da densidade eletrônica é determinada por Ω , cuja principal característica topológica é um máximo local de ρ na posição nuclear (Figura 13). Esta influência é resultante do balanço das forças exercidas por núcleos vizinhos sobre os elétrons.

Figura 13 – Topologia da densidade (ρ) definida pelos atratores na molécula de ácido propenóico (ácido acrílico): a) mapa de relevo da densidade eletrônica no plano da molécula e b) mapa de contorno de $\rho(r)$.



Fonte: Autor, 2016.

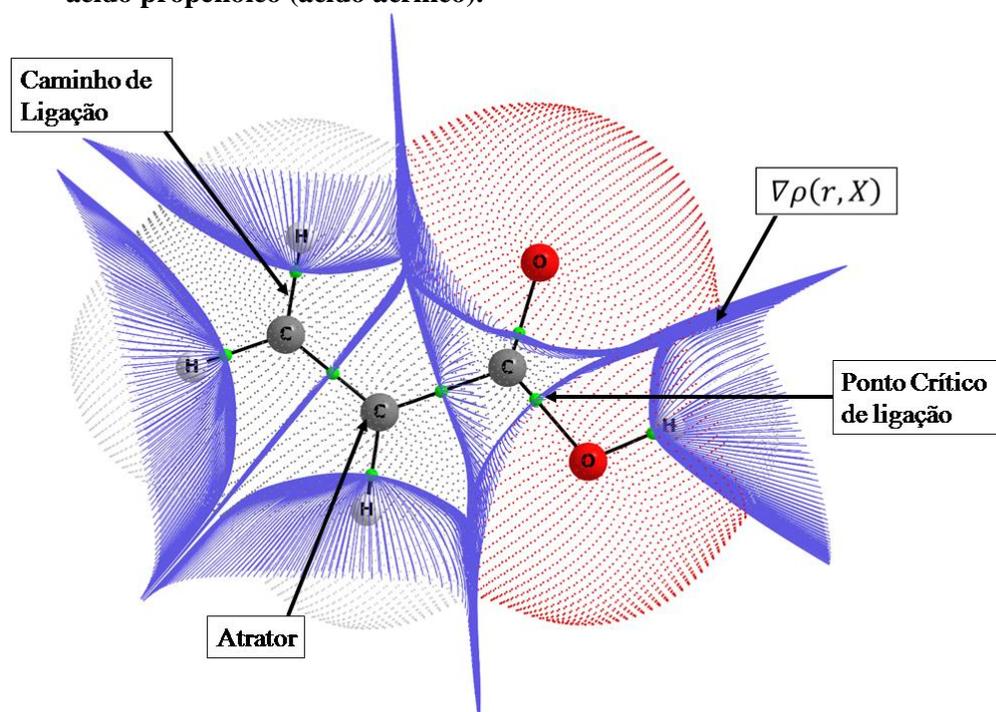
A QTAIM demonstra que as propriedades topológicas do sistema, devido a uma distribuição de cargas, são atribuídas a um arranjo de ligações (grafo molecular) para cada ponto X na configuração espacial do sistema. Isto se deve à relação unívoca entre um arranjo de ligações e a geometria molecular. Como consequência, a estrutura molecular é uma classe de equivalência do grafo molecular.

6.3.2 Pontos críticos

O comportamento vetorial de $\rho(r)$, em função das coordenadas dos atratores em um grafo molecular, apresenta em certos pontos no espaço regiões de máximo local, mínimo local ou de sela. Estes pontos são denominados de Pontos Críticos (do inglês *Critical Point* – CP).

Os CPs são definidos pela primeira derivada direcional nula sobre uma posição vetorial (\mathbf{r}_c) para um conjunto de Ω , $\nabla\rho(\mathbf{r}_c, \mathbf{X}) = 0$. A determinação do comportamento de ρ no CP é realizada a partir da análise da segunda derivada de $\rho(\mathbf{r}_c, \mathbf{X})$, $\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c, \mathbf{X})$; isto é, informa se sobre o CP a densidade eletrônica é um máximo local, um mínimo local ou um ponto de sela. Diante disso, a ligação é caracterizada como o caminho mais estável que une dois atratores vicinais que contém o CP, denominado de Caminho de Ligação (do inglês *Bond Path* – BP). Estes elementos topológicos estão descritos na Figura 14.

Figura 14 – Elementos topológicos que definem o comportamento da densidade eletrônica do ácido propenoico (ácido acrílico).

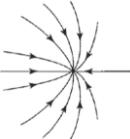
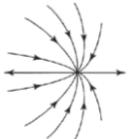
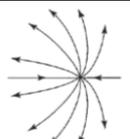
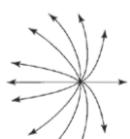


Fonte: Autor, 2016.

Uma das abordagens para tornar $\nabla^2\rho(\mathbf{r}_c, \mathbf{X})$ independente do sistema de coordenada é tomar a matriz diagonal da Hessiana. A diagonalização da matriz Hessiana gera a curvatura intrínseca da densidade com respeito ao CP. A curvatura local da densidade são autovalores ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$). Cada autovalor define um autovetor que determina a direção onde a curvatura é medida. Cada ponto crítico é caracterizado segundo a sua dimensão (ω), refere ao número de autovalores não nulo, e sinal (σ), caracterizado pela soma dos sinais dos autovalores. Com isso, os pontos críticos são representados pelo par (ω, σ). Na Tabela 1, estão todos os tipos de pontos críticos estáveis de dimensão 3. Os pontos críticos mostrados da Tabela 1 são identificados pelos elementos de estrutura química: (3,-3) Ponto Crítico Nuclear (do inglês

Nuclear Critical Point – NCP); (3,-1) Ponto Crítico de Ligação (do inglês *Bond Critical Point* – BCP); (3,+1) Ponto Crítico de Anel (do inglês *Ring Critical Point* – RCP); (3,+3) Ponto Crítico de Gaiola (do inglês *Cage Critical Point* – CCP).

Tabela 1 – Classificação dos Pontos Críticos a partir dos autovalores.

PONTO CRÍTICO	LINHAS DE CAMPO SOBRE CP	CARACTERÍSTICA
(3,-3)		Todas as curvaturas são negativas e ρ é um máximo local em r_c .
(3,-1)		Duas curvaturas são negativas e ρ é um máximo em r_c no plano definido por seus eixos. ρ é mínimo sobre o eixo perpendicular ao plano.
(3,+1)		Duas curvaturas são positivas e ρ é um mínimo em r_c no plano definido por seus eixos. ρ é máximo sobre o eixo perpendicular ao plano.
(3,+3)		Todas as curvaturas são positivas e ρ é um mínimo local em r_c .

Fonte: Autor, 2016.

6.3.3 Propriedades da Ligação

Nas superfícies de fluxo nulo, os BPs e os BCPs caracterizam e classificam as interações entre duas estruturas ligadas a partir do comportamento da densidade de energia nesta região. Este conjunto de observáveis é denominado de Propriedades da Ligação. Os principais são: Densidade Eletrônica no Ponto Crítico de Ligação (ρ_{BCP}), Laplaciano da Densidade Eletrônica no Ponto Crítico de Ligação ($\nabla^2 \rho_{BCP}$), Elipiticidade (ϵ), Densidade de Energia no Ponto Crítico de Ligação (Densidade de Energia Potencial, V, e Densidade de Energia Cinética, K) (BADER, 1991; BADER, 1994). Na Tabela 2, por exemplo, estão as propriedades topológicas da ligação entre os átomos de carbono das moléculas de etano, eteno e etino.

Tabela 2 – Propriedades da ligação entre os átomos de carbonos nos sistemas etano, eteno e etino.

SISTEMA	ρ	$\nabla^2\rho$	ϵ	K	V
Etano	0,241547	-0,548854	0.000001	+0,191440	-0,245666
Eteno	0,345649	-1,015327	0.359096	+0,388263	-0,522694
Etino	0,402794	-1,171524	0.000000	+0,574377	-0,855872

Fonte: Autor, 2016.

6.3.3.1 Densidade Eletrônica no BCP (ρ_{BCP})

A estabilidade da ligação, na QTAIM, é definida sobre densidade eletrônica no BCP, ρ_{BCP} , que une dois atratores. Assim, a ordem de ligação (OL), parâmetro que traduz a força da ligação entre dois centros nucleares, é reescrita como

$$OL = e^{[A(\rho_{BCP} - B)]} \quad (44)$$

sendo **A** e **B** constantes que variam sutilmente com o conjunto de bases atômicas. **B** é igual ao valor de ρ_{BCP} do etano e o valor **A** é obtido de tal maneira que a ordem de ligação para o etano, benzeno, eteno e etino seja igual a 1,0, 1,6, 2,0 e 3,0, respectivamente. A relação ρ_{BCP}/OL é diferente para cada par de átomos A–B; ou seja, não é possível estimar a força de ligação relativa para ligações entre diferentes átomos a partir de seus respectivos valores de ρ_{BCP} (BADER, 1994).

6.3.3.2 Laplaciano da Densidade Eletrônica no Ponto Crítico de Ligação ($\nabla^2\rho_{BCP}$)

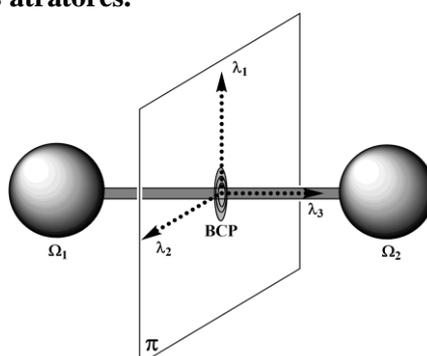
O Laplaciano no BCP indica a estabilidade da densidade eletrônica no CP, através de seus autovalores. De uma forma geral, a partir da análise da matriz Hessiana, os autovalores negativos⁵ retratam a concentração de ρ no BP. O autovalor positivo indica a extensão da concentração da densidade eletrônica sobre os atratores individuais; ou seja, se $\nabla^2\rho_{BCP} < 0$ a densidade eletrônica se concentra no BCP, caracterizando um máximo em ρ nesta região e uma interação de camada aberta entre os átomos. Caso $\nabla^2\rho_{BCP} > 0$ a densidade no BCP é um mínimo que indica uma maior concentração da densidade eletrônica sobre os atratores, indicando uma interação de camada fechada entre os átomos ligados (BADER, 1991; BADER, 1994).

⁵ $\lambda_1 e \lambda_1$; onde, por convenção, $|\lambda_1| > |\lambda_2|$.

6.3.3.3 Elipticidade (ε)

A caracterização da natureza da ligação na QTAIM é auxiliada pelo parâmetro elipticidade (ε) que trata do acúmulo da densidade em dado plano que contém o caminho de ligação (Figura 15).

Figura 15 – Representação da elipticidade sobre o ponto crítico de ligação no caminho de ligação entre dois atratores.



Fonte: Autor, 2016.

A elipticidade é determinada por

$$\varepsilon = \frac{\lambda_1}{\lambda_2} - 1 \quad (45)$$

sendo, λ_1 e λ_2 autovalores de $\nabla^2 \rho_{BCP}$.

Assim, a elipticidade indica o grau de difusão da densidade eletrônica no BP. Se $\lambda_1 = \lambda_2$, então $\varepsilon = 0$ que implica uma ligação de simetria cilíndrica (ligação simples ou tripla) (Tabela 2). Ou seja, o caráter π da ligação (BADER, 1994; GILLESPIE; POPELIER, 2001).

6.3.3.4 Densidade de Energia⁶ no BCP

As densidades de Energia Potencial (V) e de Energia Cinética (K) são usadas para sintetizar a mecânica das interações entre atratores unidos por um caminho de ligação. O teorema virial local, para estados estacionários, relaciona V, K e $\nabla^2 \rho(r)$,

⁶ As densidades de energia requerem a informação contida na matriz densidade monoelétrica, \mathcal{D} ; mais precisamente são determinadas a partir do $Tr\mathcal{D}_i$.

$$\left(\frac{\hbar^2}{4m}\right)\nabla^2\rho(r) = 2K(r) + V(r) \quad (46)$$

tal que,

$$K(r) = -\frac{1}{2}N \int |\nabla\psi|^2 d\tau \quad (47)$$

Pelo fato de $K > 0$ e $V < 0$, as interações que apresentam $\nabla^2\rho_{BCP} < 0$ são reduzidas ao incremento local de V ; quando $\nabla^2\rho_{BCP} > 0$, as interações são reduzidas ao incremento local de K .

6.3.4 Topologia da ligação de hidrogênio

A análise topológica da densidade eletrônica se apresenta como uma poderosa técnica no estudo da natureza das interações entre pares atômicos. Uma vez que o campo de gradiente de ρ define um conjunto de interações atômicas. Estas interações são caracterizadas em termo do Laplaciano de ρ sobre as coordenadas do CP (3,-1) (BADER, 1991).

O sinal de $\nabla^2\rho_{BCP}$, em termos energéticos (equação 46), determina e caracteriza a interação entre dois centros atômicos (atratores). Além de informar o fator enérgico que mais contribui para a estabilização: densidade de energia cinética ou densidade de energia potencial. As propriedades de ρ no ponto crítico (3,-1) para algumas espécies químicas estão demonstradas na Tabela 3.

Tabela 3 – Caracterização topológica das interações em moléculas diatômicas.

MOLÉCULA	ρ_{BCP}	$\nabla^2 \rho_{BCP}$
Interação Compartilhada		
H ₂	0,2728	-1,3784
B ₂	0,1250	-0,1983
N ₂	0,7219	-3,0500
NO	0,5933	-2,0353
NO ⁻	0,5755	-2,0885
O ₂	0,5513	-1,0127
Interação de Camada Fechada		
He ₂	0,0367	0,2501
Ne ₂	0,1314	1,3544
Ar ₂	0,0957	0,4455
LiCl	0,0462	0,2657
NaCl	0,0358	0,2004
NaF	0,0548	0,4655
KF	0,0554	0,3132
MgO	0,0903	0,6506

Fonte: Bader, 1994.

Na Tabela 3, observa-se que no caso $\nabla^2 \rho_{BCP} < 0$ e alto valor absoluto implica um alto valor à ρ_{BCP} . Acarretando em uma concentração da densidade eletrônica na região interatômica, caracterizando uma interação covalente ou polar denominada de Interação Compartilhada. No caso em que $\nabla^2 \rho_{BCP} > 0$, observa-se pequenos valores na ρ_{BCP} no ponto (3,-1), demonstrando que o domínio individual dos centros atômicos (atratores) sobre a densidade eletrônica na interação. Assim, as interações observadas entre os gases nobres, ligações de hidrogênio (TREVISAN et al.), ligação iônicas e interação de van der Waals (IW) são caracterizadas. Destarte, as interações compartilhadas são caracterizadas por $\rho_{BCP} > 0,2$ e $\nabla^2 \rho_{BCP} < 0$, enquanto as interações de camada fechada por $\rho_{BCP} < 0,01$ e $\nabla^2 \rho_{BCP} > 0$.

Dentre as interações de camada fechada, as mais relevantes à compreensão da estabilidade de aglomerados moleculares são LHs e as IWs. Na Tabela 4 é possível observar as propriedades topológicas destas interações. Pelo fato das LH e IW apresentarem topologia de interações de camada fechada, representadas por baixo valor de ρ_{BCP} e $\nabla^2 \rho_{BCP} > 0$, é possível determinar a força de tais interações, para uma série de interações desses tipos em vários sistemas, como por exemplo, os sistemas apresentados da Tabela 4. Na Seção 6.3.3 foi

mostrado a relação destes parâmetros com a força, forma e estabilidade da ligação, representados respectivamente pela ordem de ligação, elepticidade e densidade de energia da densidade eletrônica no CP (3,-1).

Tabela 4 – Característica topológica das interações de camada fechada nas interações de ligação de hidrogênio e de van der Waals em sistemas bimoleculares.

MOLÉCULAS	ρ_{BCP}	$\nabla^2\rho_{BCP}$
Ligação de hidrogênio		
(H ₂ O) ₂	0,0198	0,0623
(HF) ₂	0,0262	0,1198
HCN...HF	0,0284	0,0920
NN...HF	0,0169	0,0647
Interação de van der Waals		
Ne...HF	0,0099	0,0484
Ar...HF	0,0077	0,0311

Fonte: Bader, 1994.

O Laplaciano da densidade eletrônica no ponto crítico, mesmo sendo positivo, descreve a estabilidade das interações LH e IW. O termo característico na descrição da estabilidade é a densidade de energia potencial; ou seja, valores positivos não muito altos para $\nabla^2\rho_{BCP}$, quando positivo, descreve uma interação cujo caráter covalente é apreciável à interação (estabilidade oriunda do compartilhamento de densidade eletrônica na região interatômica). Raciocínio análogo para a densidade eletrônica no (3,-1) (Tabela 3 e 4). Assim, a LH convencional apresenta as seguintes propriedades: $\rho_{BCP} = 0,002$ a $0,035$ a.u e $\nabla^2\rho_{BCP} = +0,024$ a $-0,134$ a.u.

7 METODOLOGIA

7.1 Amostra

A amostra foi sintetizada pelo grupo de síntese orgânica do prof. Dr. Alex Fabiani Claro Flores no Laboratório de Pesquisa e Química Orgânica da Universidade Federal de Rio Grande – RS. A amostra foi enviada na forma de monocristais adequados para o experimento de difração de raios X. No trabalho adotou-se o acrônimo CL3ONA para a amostra.

7.2 Determinação da Estrutura

A coleta dos dados cristalográficos foi realizada em um difratômetro Kappa CCD usando o programa *Collect* (Enraf-Nonius (1997-2000)) e processada usando o software *Denzo HKL* (OTWINOWSKI; MINOR, 1997), em seguida escalonada empregando o software *Scala*. A estrutura foi resolvida com o software SHELXL 97 (SHELDRICK, 1997) contido no pacote de programas do WingX (FARRUGIA, 2012), usando como abordagem de recuperação de fases, o *Método Direto*, a estrutura então foi determinada e refinada até atingir um modelo final, utilizando o método estatístico dos mínimos quadrados. Todas as figuras de posicionamento e deslocamento atômico foram obtidas a partir do programa ORTEP (FARRUGIA, 2012), e as demais figuras que apresentam empacotamento cristalino e forças intra e intermoleculares foram obtidas com o programa Mercury (MACRAE et al., 2008).

7.3 Modelagem Molecular

7.3.1 Docking

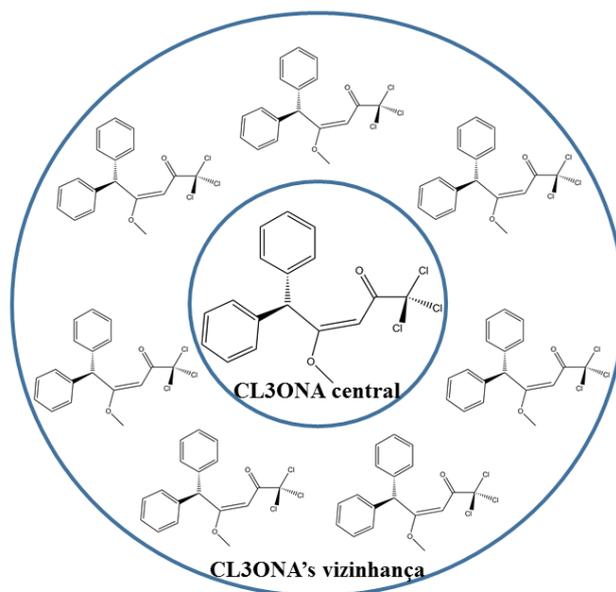
A preparação do aduto substrato-enzima foi realizada através da estratégia de *docking* molecular empregando o software Maestro (Schrödinger Release 2015-2: Maestro, 2015). A proteína foi corrigida e minimizada com o campo de força OPLS-2005 (BANKS et al., 2005). Para o ligante (CL3ONA), foi utilizado o campo de força OPLS-2005 e faixa de pH de 5 a 7. E após geração da *grid box*, foi obtido a conformação da maior afinidade para a interação ligante-receptor.

7.3.2 Estrutura Eletrônica

7.3.2.1 Estudo das interações no seio cristalino

A análise em nível de estrutura eletrônica das interações no seio cristalino foi realizada mediante a abordagem *Single Point* segundo a metodologia DFT com funcional híbrido de troca e correlação de Perdow, Burke e Ernzerhof – PBE1PBE (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996; ZHANG; YANG, 1998; ADAMO; BARONE, 1999). Com o conjunto gerador de base atômica de correlação consistente de valência duplamente polarizada – cc-pVDZ (DUNNING, 1989). Disponível no pacote comercial de programa de modelagem molecular Gaussian09 (FRISCH et al., 2009). O modelo para o estudo foi composto por uma molécula central de CL3ONA e sua vizinhança imediata (Figura 16). Em seguida, a magnitude e natureza das interações foram estudas segundo o modelo NBO (REED; WEINHOLD, 1985; REED; WEINSTOCK; WEINHOLD, 1985; CARPENTER; WEINHOLD, 1988; REED; CURTISS; WEINHOLD, 1988), *software* Gaussian09, e a QTAIM (BADER; NGUYEN-DANG; TAL, 1981; BADER, 1991; BADER, 1994), *software* AIMALL (AIMAll: Version 16.01.09, 2016).

Figura 16 – Esquema para a análise das interações estabilizantes durante o empacotamento da CL3ONA.

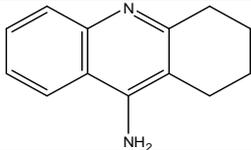
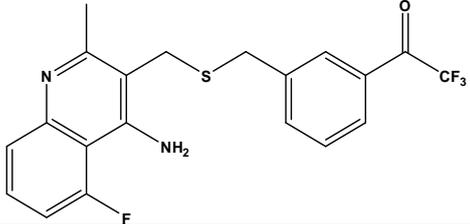
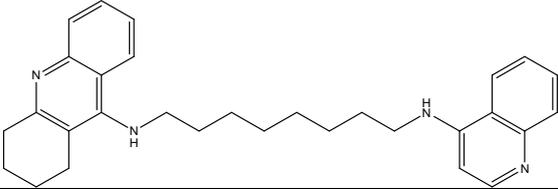
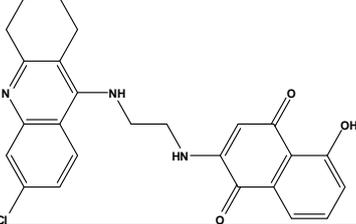


Fonte: Autor, 2016.

7.3.2.2 Estudo das interações ligante-receptor

Para o estudo da estrutura eletrônica do aduto substrato-enzima (CL3ONA+AChE) (Item 5.2.1) foi empregado a abordagem *Single Point*, segundo a metodologia DFT com funcional PBE1PBE e conjunto de base atômica cc-pVDZ, disponível no Gaussian09. Em seguida, a magnitude e natureza das interações foram analisadas segundo o modelo NBO (Gaussian09). Para comparação, foram analisadas interações substrato-enzima de 4 inibidores descritos na literatura, cujas estruturas cristalográficas substrato-enzima foram recuperados do banco de dados PDB (Tabela 5).

Tabela 5 – Compostos, recuperados do banco de dados do PDB.org, utilizados como referência para o estudo das interações ligante-enzima.

ESTRUTURA	NOMENCLATURA IUPAC	CÓDIGO PDB
	1,2,3,4-tetraidroacridin-9-amina	THA
	1-(3-(((4-amino-5-fluoro-2-metilquinolin-3-il)metiltio)etil)fenil)-2,2,2-trifluoroetana	FBQ
	N ¹ -(quinolin-4-il)-N ⁸ -(1,2,3,4-tetraidroacridin-9-il)octano-1,8-diamina	A8B
	2-(2-(6-cloro-1,2,3,4-tetraidroacridin-9-ilamino)etilamino)-5-hidroxinaftaleno-1,4-diona	TJH

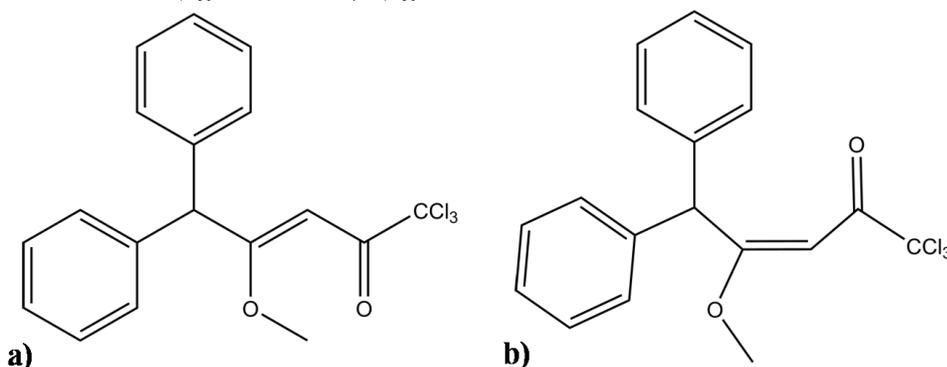
Fonte: Autor, 2016.

8 RESULTADOS E DISCUSSÕES

8.1 Determinação da estrutura molecular e cristalina do composto 1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (CL3ONA)

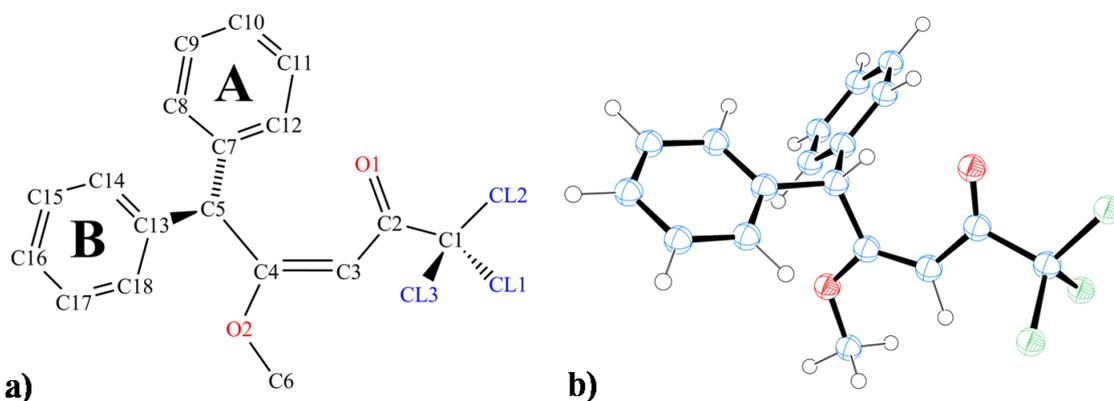
Para a determinação estrutural da molécula de 1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona, foi utilizada a proposta estrutural representada na Figura 17. Assim, há duas configurações possíveis para a molécula de CL3ONA: **E** e **Z**. Após a caracterização por difração de raios X, foi observada a geometria **E** para a molécula de CL3ONA, como pode ser visto na Figura 18.

Figura 17 – Proposta estrutural para a molécula de 1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona: a) geometria **Z**; b) geometria **E**.



Fonte: Autor, 2016.

Figura 18 – Representação: a) bidimensional e b) ORTEP da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona identificado com átomos e fator de vibração térmica a 50% de probabilidade.



Fonte: Autor, 2016.

Os parâmetros cristalinos da cela unitária bem como outros dados relevantes obtidos na resolução estrutural são mostrados na Tabela 6. As coordenadas de posições atômicas e parâmetros isotrópicos para todos os átomos são mostrados na Tabela 1 (Anexo A), com os respectivos desvios padrão, exceto os átomos de hidrogênio. As coordenadas de posições atômicas e parâmetros térmicos isotrópicos para átomos de hidrogênio são mostrados na Tabela 2 (Anexo A). Na Tabela 3 (Anexo A), estão presentes os parâmetros de vibração térmica anisotrópicos dos átomos da estrutura CL3ONA, com os respectivos desvios padrão, exceto os hidrogênios.

As distâncias e ângulos de ligação para átomos, exceto hidrogênio, estão listados nas Tabelas 4 e 5 dos Anexo A, respectivamente, enquanto os ângulos de torção do referido composto estão contidos na Tabela 6 (Anexo A). Átomos de hidrogênio, quando não são possíveis componentes de uma ligação de hidrogênio ou mesmo participantes de ligações denominadas secundárias, não fazem parte das Tabelas 4, 5 e 6 (Anexo A).

Tabela 6 – Principais dados cristalográficos na determinação estrutural da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona (Cl3ONA).

Fórmula empírica	C ₁₈ H ₁₅ O ₂ Cl ₃
Massa Molecular (g/mol)	369,65
Comprimento de onda (Å)	0,71073
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 ₁ /n
a (Å)	6,0493 (2)
b (Å)	12,3443 (5)
c (Å)	23,4876 (9)
β (°)	95,654 (3)
V (Å ³)	1745,39 (11)
Z (moléculas/cela unitária)	4
T (K)	298,15
Densidade (Calculada) (g cm ⁻³)	1,407
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,531
h, k, l (mim, max)	(-7 -15 -29); (7 15 29)
Parâmetros	298
F(0 0 0)	760,0
Goof (S)	1,0760
R _{obs} [I>2σ(I)]	0,0501
R _{all}	0,1076
R _{int}	0,0946

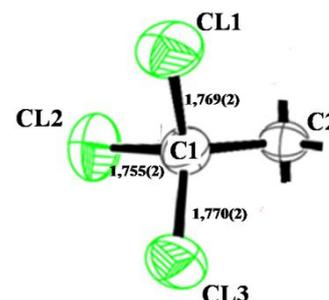
Fonte: Autor, 2016.

Os valores médios para as distâncias e ângulos envolvendo os átomos de carbono no anel aromático ($C_{sp^2} - C_{sp^2}$) estão dentro dos limites considerados normais (COX; CRUICKSHANK; SMITH, 1958). O menor valor calculado no anel **A** foi de 1,373(4) Å para C10–C11, enquanto que 1,387(3) Å foi o maior valor determinado para C7–C8 do mesmo anel. Estas mesmas distâncias determinadas para o anel aromático designado por **B** foram: 1,364(4) Å para C16–C17 e 1,397(3) Å para C17–C18, respectivamente. Cabe salientar que as

distâncias médias de tais ligações nos anéis **A** e **B**, em Å, foram 1,380(4) e 1,378(4), ou seja, altamente concordante com os dados encontrados na literatura para este tipo de anel (1,40 Å).

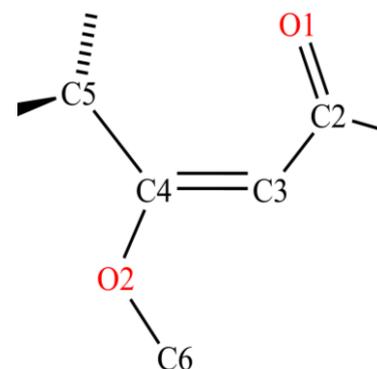
Os comprimentos de ligação envolvendo os átomos CL e Cl, ilustrados no fragmento molecular abaixo, são altamente concordantes entre si e apresentam um valor médio de 1,765(2) Å, ou seja, bem próximos do valor (1,79 Å) encontrado na literatura (SMITH; MARCH, 2007).

Os comprimentos de ligação envolvendo os átomos CL e Cl, ilustrados no fragmento molecular ao lado, são altamente concordantes entre si e apresentam um valor médio de 1,765(2) Å, ou seja, bem próximos do valor (1,79 Å) encontrado na literatura (SMITH; MARCH, 2007).



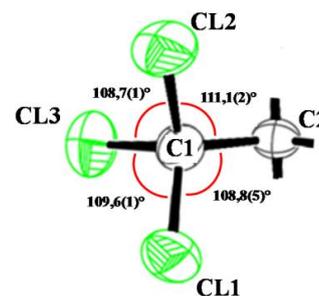
Para a ligação entre os átomos C1 e C2, o valor calculado, dentro do erro experimental, não difere para o valor médio encontrado na literatura para este tipo de ligação (1,53 Å).

Na cadeia lateral do composto CL3ONA, as ligações duplas estão bem localizadas, ou seja, envolvem os átomos C3 e C4 (C3=C4, 1,345(3) Å) e os átomos C2 e O1 (C2=O1, 1,213(3) Å), sendo esta última bem concordante com ligações envolvendo o grupamento carbonílico (1,220 Å). A ligação simples relacionada com os átomos C5–C4 (1,512(3) Å) está um pouco abaixo do valor esperado (1,54 Å), justamente devido à influência da ligação dupla C3=C4 já mencionada. As demais ligações estão bem dentro dos valores normais encontrados na literatura.



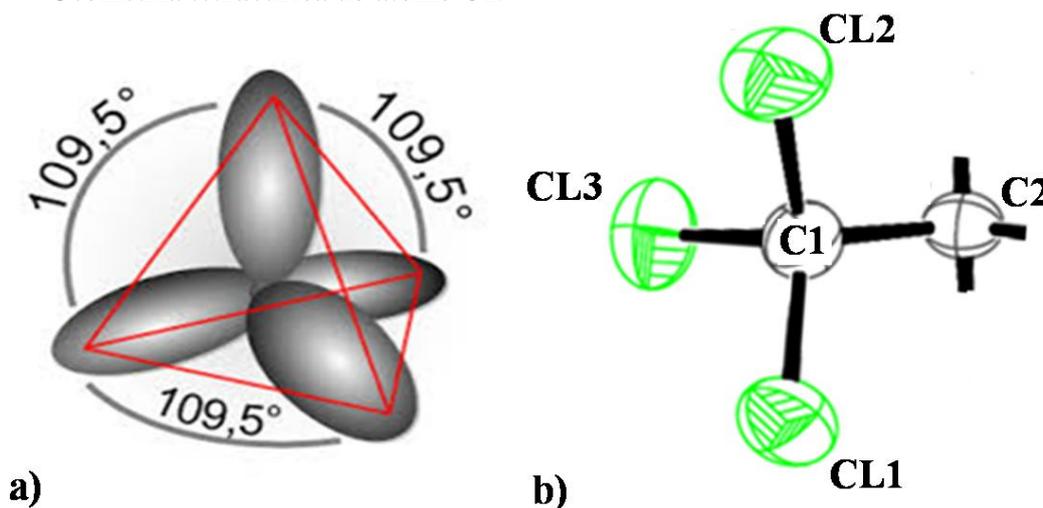
No caso dos ângulos interatômicos, os valores mínimos calculados para os anéis **A** e **B** foram: C12–C7–C8, 118,2(2)°, e C14–C13–C18, 117,6(2)°, respectivamente. Os valores máximos foram: C11–C12–C7, 120,9(2)°, (anel **A**) e C15–C14–C13, 121,4(2)°, (anel **B**). No entanto, os valores médios de tal grandeza foram de 120,0(2)° e 120,0(3)° para os anéis **A** e **B**, ou seja, idênticos ao valor esperado de 120,0(0)°.

Os ângulos, tendo como referência o átomo C1 como espécie química central, são colocados no fragmento ao lado. Além destes, os ângulos CL2–C1–CL1 e C2–C1–CL3 com valores de $109,3(1)^\circ$ e $109,4(1)^\circ$, respectivamente, completam o conjunto de ângulos tendo como átomo central o carbono já citado.



Através do valor médio obtido para os ângulos envolvendo o C1 como átomo central ($109,5(2)^\circ$) pode-se afirmar que estão dispostos segundo um tetraedro perfeito, uma vez que o valor obtido para a grandeza mencionada neste início de parágrafo está em torno de 109° . A Figura 19.a ilustra a geometria de um tetraedro perfeito que o fragmento do composto assume (Figura 19.b).

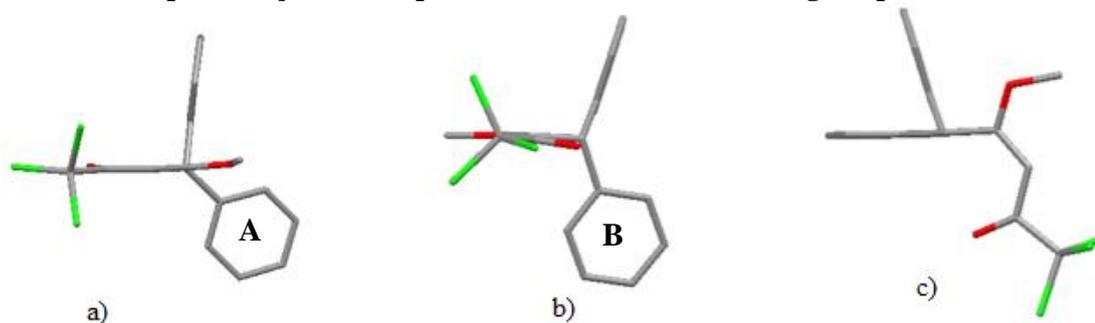
Figura 19 – Geometria tetraédrica do átomo C1.



Fonte: Autor, 2016.

Os valores absolutos dos ângulos de torção, bem como da distância que um átomo apresenta em relação a um plano médio que passa por um conjunto de átomos pré-selecionados, embora alguns ligeiramente diferentes entre si, foi possível constatar que o composto em questão apresenta três regiões planares, como ilustradas na Figura 20.

Figura 20 – Representação do composto Cl3ONA evidenciando regiões planares da molécula.

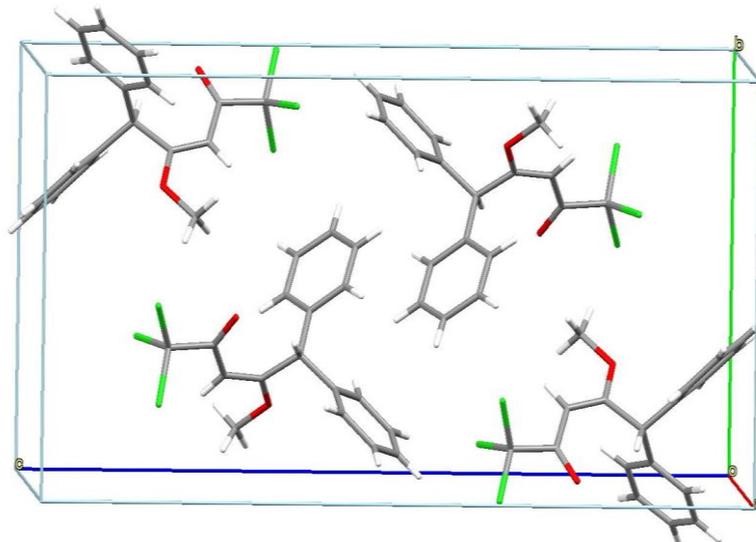


Fonte: Autor, 2016.

A Figura 20.a ilustra os planos envolvendo o anel **A** e a região das duplas ligações e a Figura 20.b destaca os planos envolvendo esta mesma região com o anel **B**. Enquanto que a Figura 20.c mostra os planos envolvendo os anéis **A** e **B**.

O composto em estudo cristaliza-se no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$ com quatro moléculas discretas por cela unitária, como ilustrado na Figura 21.

Figura 21 – Representação da cela unitária do empacotamento da (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona.



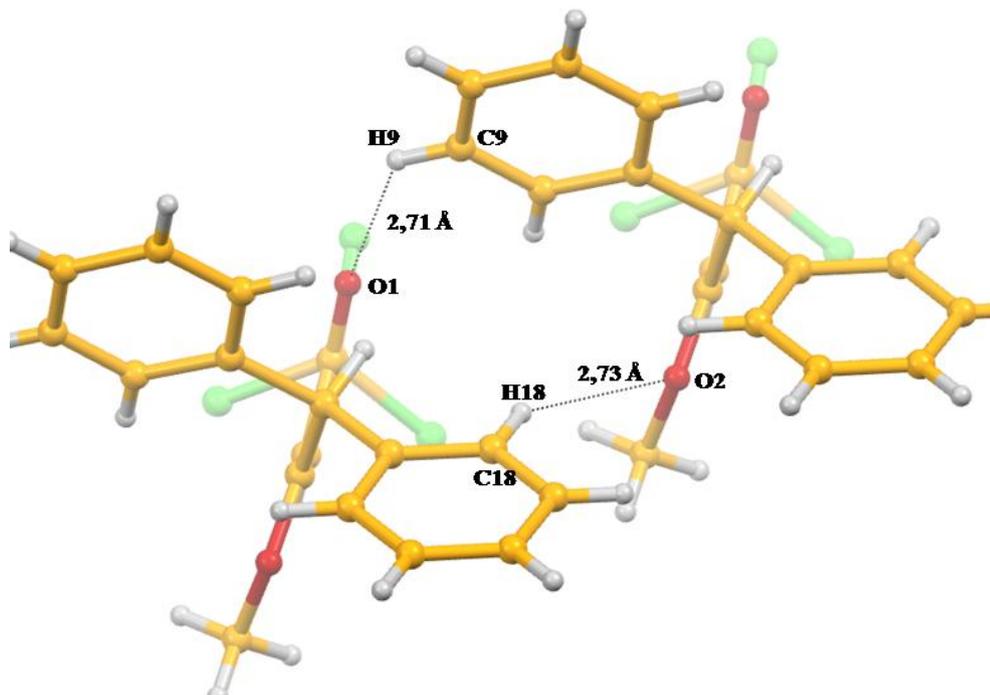
Fonte: Autor, 2016.

Nota: Cela unitária_CL3ONA, disponível em:<bit.ly/1TGY1y4>.

O empacotamento cristalino descreve a disposição espacial no interior da cela unitária das moléculas constituintes da substância do referido estudo. A realização deste feito foi possível com base na simetria obtida através da análise de condições existentes no conjunto de reflexões coletadas para cada composto. De posse do empacotamento cristalino, é

possível aferir que tipo de interação mantém o composto em estudo dentro da cela unitária (Figura 21). No caso em questão, duas ligações denominadas secundárias, mantêm as quatro moléculas do CL3ONA no seu retículo cristalino. Tais interações estão ilustradas na Figura 22 e os dados referentes às mesmas estão colocados na Tabela 7.

Figura 22 – Ligações secundárias observadas no empacotamento da CL3ONA.



Fonte: Autor, 2016

Tabela 7 – Distâncias (Å) e ângulos (°) das ligações de hidrogênio para o CL3ONA.

D-H...A	d(D-H)(Å)	d(H...A)(Å)	d(D...A)(Å)	ÂNGULO (°)
C18-H18...O2	0,93	2,73	3,572(4)	150*
C9-H9...O1	0,93	2,71	3,356(4)	127**

Fonte: Autor, 2016.

(*) = x-1, y, z; (**) = x+1, y, z.

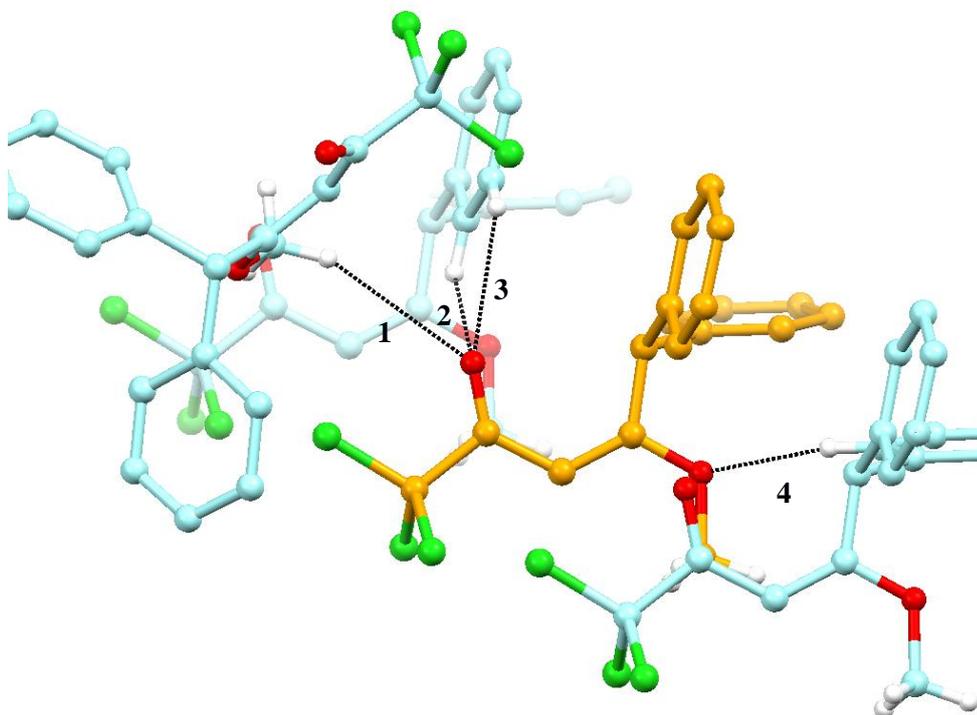
8.2 Estudo das interações estabilizantes no seio cristalino

Ao analisar as interações que poderiam ser responsáveis pela estabilidade do sistema cristalino, foram observados os seguintes tipos de interação: i) do tipo O...H-C; ii) do tipo C...C=C, C...H-C e C-H...H-C; iii) do tipo CL...X-C (X = C, H, O, CL).

8.2.1 Interações do tipo O...H-C

Após a análise NBO foi observado 4 interações devido à deslocalização eletrônica do tipo $n \rightarrow \sigma^*$, cujas transferências eletrônicas são oriundas dos pares de elétrons n do átomo de oxigênio, ou dos elétrons da ligação π da carbonila da molécula central aos orbitais σ^* das ligações C-H das moléculas vizinhas (Figura 23). Na Tabela 8, pode-se observar as magnitudes de tais deslocalizações eletrônicas.

Figura 23 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).



Fonte: Autor, 2016.

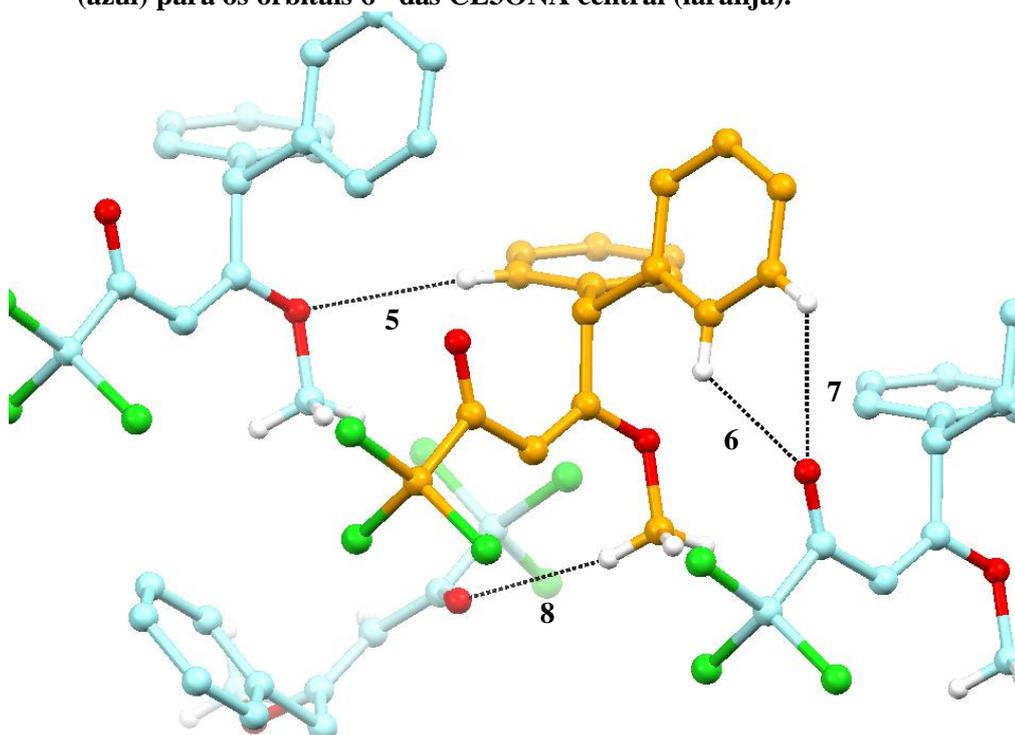
Tabela 8 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONA central para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
1	3,04	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,23
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,15
2	2,78	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,16
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,30
3	2,71	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,49
		$\pi_{C-O} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,10
4	2,729	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,46
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,41

Fonte: Autor, 2016.

Para concluir a caracterização das interações desta natureza foram analisadas as interações, cujo sentido de deslocalização é das CL3ONAs vizinhas à CL3ONA central. Na Figura 24, pode-se observar as 4 interações desta natureza. A análise eletrônica destas interações mostrou que são compostas também, por transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujos valores de energia de deslocalização estão descritos na Tabela 9.

Figura 24 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONAs da vizinhança (azul) para os orbitais σ^* das CL3ONA central (laranja).



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 9 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e pares de elétrons n da CL3ONAs da vizinhança para os orbitais σ^* da CL3ONA central.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
5	2,73	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,45
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,41
6	2,78	$\pi_{C-O} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,29
		$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,16
7	2,71	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,43
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,09
8	3,04	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,23
		$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,13

Fonte: Autor, 2016.

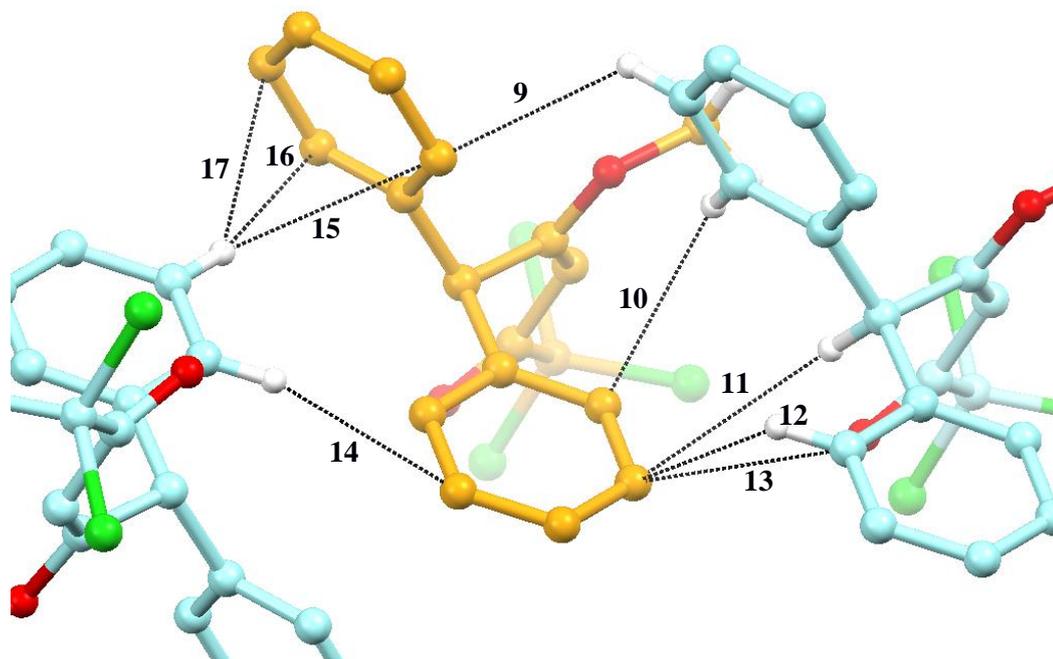
De acordo com as Tabelas 8 e 9, pode-se observar que as interações cujos valores são mais significantes à estabilização são: **1** (0,23 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **2** (0,30 kcal.mol⁻¹ [$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **3** (0,49 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **4** (0,46 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$] / 0,41 kcal.mol⁻¹ [$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **5** (0,45 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$] / 0,41 kcal.mol⁻¹ [$n2_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **6** (0,29 kcal.mol⁻¹ [$\pi_{C-O} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **7** (0,43 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **8** (0,23 kcal.mol⁻¹ [$n1_o \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]).

8.2.2 Interações do tipo C...C=C, C...H-C e C-H...H-C

Após análise NBO foram observadas interações oriundas de deslocalizações eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\sigma \rightarrow \sigma^*$ (Figuras 25 a 28).

Primeiramente, foi analisada as deslocalizações do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido doador→aceptor foi CL3ONA central às CL3ONAs vicinais (Figura 25). Na Tabela 10, observam-se as magnitudes de tais deslocalizações eletrônicas à estabilização do sistema. Dentre estas pode ser destacada uma deslocalização eletrônica de natureza $\pi \rightarrow \pi^*$ (**13**), cuja magnitude observada para o sistema foi 0,05 kcal.mol⁻¹.

Figura 25 – Interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático da CL3ONA central (laranja) para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 10 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático da CL3ONA central para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONAs vizinhas.

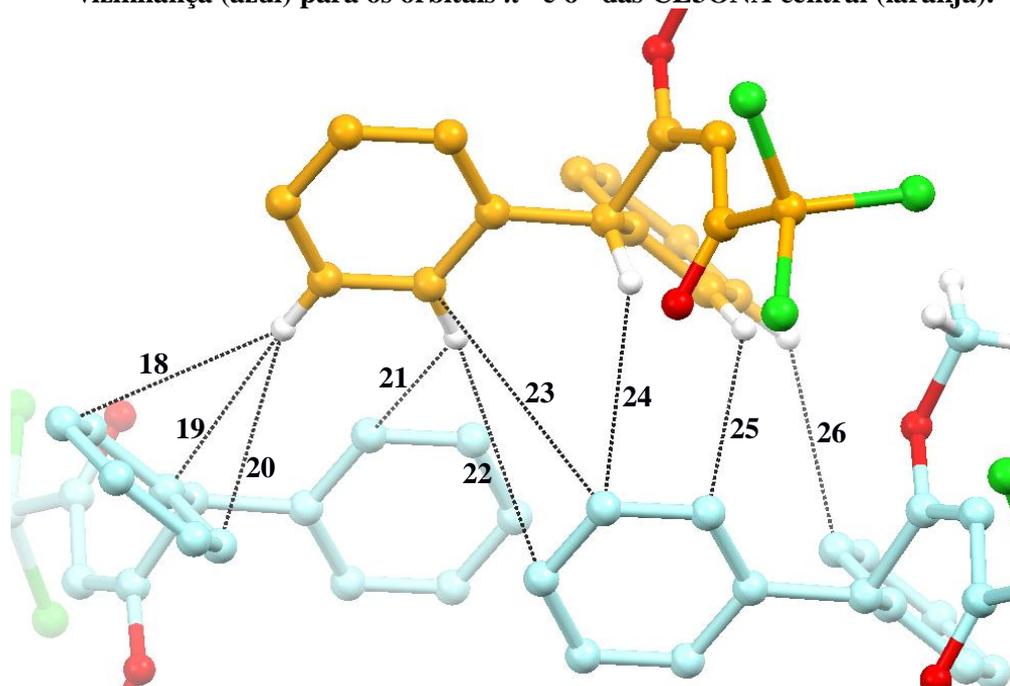
INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
9	2,97	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,37
10	3,16	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,27
11	3,05	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
12	3,40	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,16
14	3,14	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,26
15	3,10	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,29
16	3,17	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,27
17	3,16	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,17
13	3,92	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,05

Fonte: Autor, 2016.

Devido ao arranjo espacial, que acarreta condições eletrônica igualmente de doador quanto de acceptor de densidade eletrônica para cada molécula de CL3ONA, foi analisada as deslocalizações de natureza $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, cujo sentido doador→acceptor foi CL3ONAs vicinais à CL3ONA central (Figura 26). Na Tabela 11, observam-se as magnitudes de tais

deslocalizações eletrônicas à estabilização do sistema. Dentre estas, observa-se uma deslocalização eletrônica de natureza $\pi \rightarrow \pi^*$ (23), cuja magnitude observada para o sistema foi de 0,23 kcal.mol⁻¹.

Figura 26 – Interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático das CL3ONAs da vizinhança (azul) para os orbitais π^* e σ^* das CL3ONA central (laranja).



Fonte: Autor, 2016.

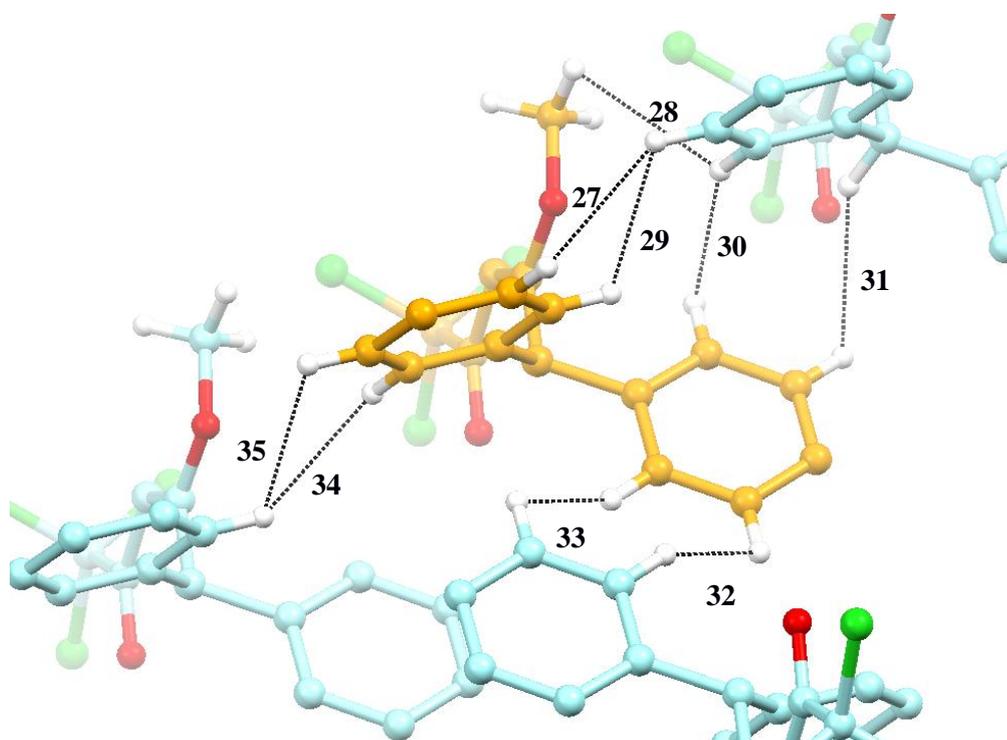
Tabela 11 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π do circuito aromático das CL3ONAs da vizinhança para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
18	3,16	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,17
19	3,16	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,28
20	3,10	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,28
21	3,14	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,28
22	3,55	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,19
24	3,05	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
25	3,16	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,05
26	2,97	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,36
23	3,92	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,27

Fonte: Autor, 2016.

Além destes tipos de interações, foi observado no sistema deslocalizações eletrônicas do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$ (Figuras 27 e 28). Uma vez que os orbitais envolvidos nesta transferência apresentam orientação e simetria adequadas. Na Figura 27, observam-se interações deste tipo, cujo sentido da transferência são dos orbitais σ da CL3ONA central aos orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas. Na Tabela 12, observam-se as magnitudes de tais deslocalizações eletrônicas. Somente a interação **31** é relevante para a estabilização do sistema, cuja energia de deslocalização eletrônica é $0,23 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Figura 27 – Interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas (azul).



Fonte: Autor, 2016.

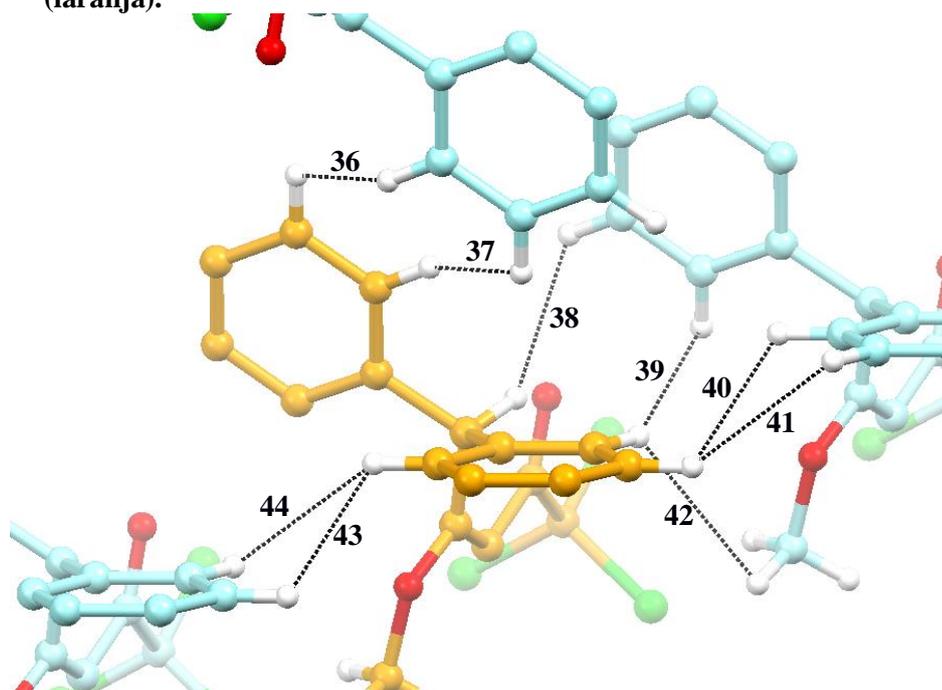
Tabela 12 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ da CL3ONA central para os orbitais σ^* das CL3ONAs vizinhas.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
27	2,78	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,07
28	2,88	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,06
29	2,46	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,07
30	2,96	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
31	2,60	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,23
32	2,66	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,12
33	2,66	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
34	2,76	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,07
35	2,46	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,10

Fonte: Autor, 2016.

Na Figura 28, pode-se observar as interações de natureza eletrônica $\sigma \rightarrow \sigma^*$ de sentido para a transferência dos orbitais σ das CL3ONAs da vizinhança aos orbitais σ^* da CL3ONA central. Na Tabela 13, por outro lado, pode-se observar que somente a interação **38** é relevante para a estabilização do sistema, cuja energia de deslocalização eletrônica é 0,22 kcal.mol⁻¹.

Figura 28 – Interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ das CL3ONAs da vizinhança (azul) para orbitais σ^* da CL3ONA central (laranja).



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 13 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais σ das CL3ONAs da vizinhança para orbitais σ^* da CL3ONA central.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	TRANSFERÊNCIA ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
36	2,66	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,09
37	2,66	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,13
38	2,60	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,22
39	2,96	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
40	2,46	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,06
41	2,78	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,08
42	2,88	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,05
43	2,46	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,10
44	2,76	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,07

Fonte: Autor, 2016.

Após as análises QTAIM, para extração das propriedades topológicas nas interações apresentadas nas Figuras 25, 26, 27 e 28, foi possível verificar interações não-convencionais que auxiliam no empacotamento da CL3ONA. Esta rede de interações foi caracterizada por meio da determinação de densidade eletrônica (ρ), laplaciana de densidade eletrônica ($\nabla^2\rho$), elipticidade da densidade eletrônica no ponto crítico (ϵ) e densidade de energia potencial (V) (Tabela 14).

Tabela 14 – Propriedades QTAIM para as interações do tipo C...C=C, C...H-C e C-H...H-C no empacotamento da CL3ONA.

BCP (Interação)	ρ (a.u)	$\nabla^2\rho$ (u.a)	ϵ (a.u)	V (a.u)
23	0.001107	+0.003285	5.519133	-0.000456
26	0.001000	+0.003244	2.777557	-0.000367

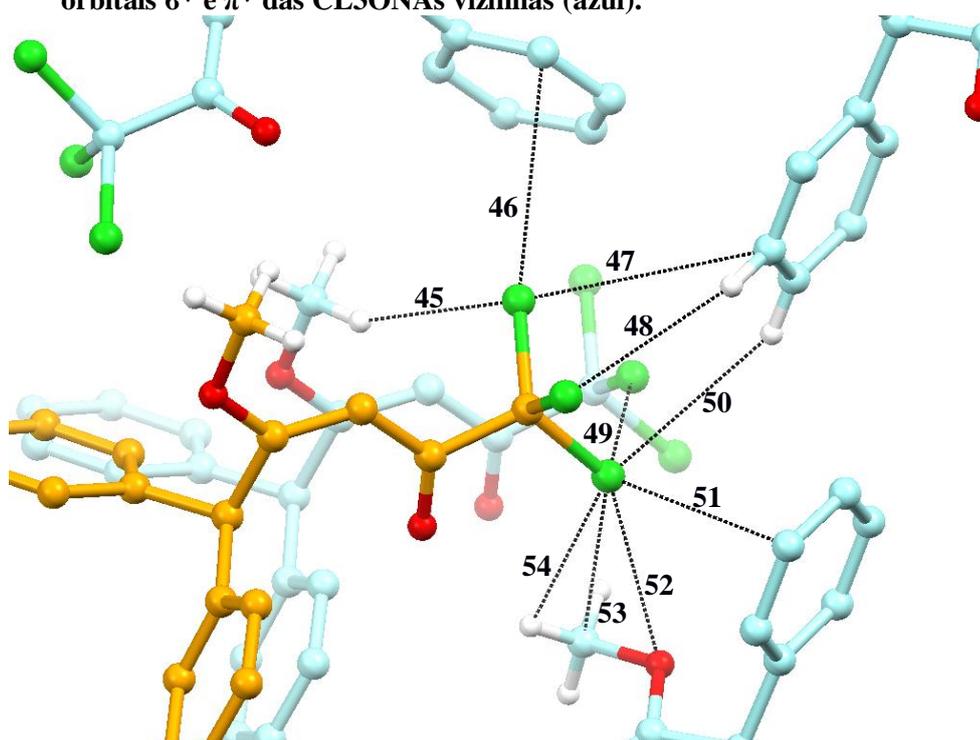
Fonte: Autor, 2016.

Assim, a existência da interação **23** indica a ocorrência de uma interação do tipo empilhamento- π , de magnitude semelhante à da interação **26**. As interações descritas por estes CP's são topologicamente correspondentes a uma interação fraca, cada uma equivalente à metade da força de uma ligação de hidrogênio convencional ($\rho = 0.002$ a.u. a 0.035 a.u.; $\nabla^2\rho = +0.024$ a.u. a -0.139 a.u.).

8.2.3 Interações do tipo CL...X-C (X = C, H, O, CL)

Após a análise NBO, observam-se interações formadas a partir de deslocalizações eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$ (Figuras 29, 30 e 31). Primeiramente, foram analisadas as deslocalizações do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido foi da CL3ONA central às CL3ONAs vizinhas (Figura 29). Na Tabela 15, observa-se que estas interações são compostas em sua maioria pela adição de transições eletrônicas individuais oriundas dos diferentes pares de elétrons n do átomo de cloro aos orbitais σ^* e π^* . Isto é decorrente da orientação e simetria destes orbitais. Também, foi possível observar uma deslocalização eletrônica $n_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-CL}$ (49) característica de ligação de di-halogênio de magnitude de 0,19 kcal.mol⁻¹.

Figura 29 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais dos elétrons n da CL3ONA central (laranja) para os orbitais σ^* e π^* das CL3ONAs vizinhas (azul).



Fonte: Autor, 2016.

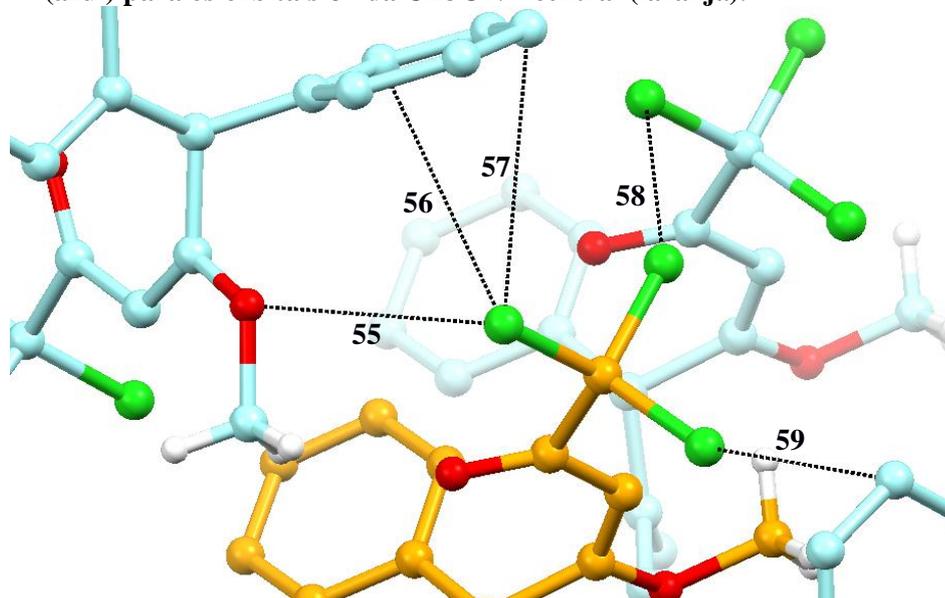
Tabela 15 – Magnitude das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais dos elétrons n da CL3ONA central para os orbitais σ^* e π^* das CL3ONAs vizinhas.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
45	3,10	$n1_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,17
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,17
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,86
48	3,12	$n1_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,18
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,64
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,31
50	3,24	$n1_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,14
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,36
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,07
53	3,47	$n1_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,11
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,22
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,06
54	3,12	$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,16
52	3,27	$n2_{CL} \rightarrow \sigma_{O-C}^*$	0,07
46	3,70	$n2_{CL} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,12
47	3,78	$n2_{CL} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,07
		$n3_{CL} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,06
51	3,61	$n2_{CL} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,06
49	3,73	$n3_{CL} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,19

Fonte: Autor, 2016.

Na Figura 30, observa-se as deslocalizações eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da transferência são dos pares de elétrons n e orbitais π das CL3ONAs da vizinhança aos orbitais σ^* da CL3ONA central. Na Tabela 16, observam-se as magnitudes da energia de deslocalização eletrônica para essas interações. Dentre estas, observa-se uma deslocalização típica de ligação de di-halogênio (**58**) de magnitude de 0,19 kcal.mol⁻¹.

Figura 30 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e dos elétrons n das CL3ONAs da vizinhança (azul) para os orbitais σ^* da CL3ONA central (laranja).



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 16 – Magnitudes das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais π e elétrons n das CL3ONAs da vizinhança para os orbitais σ^* da CL3ONA central.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
55	3,27	$n_{2O} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,18
58	3,73	$n_{3CL} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,19
56	3,59	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,07
57	3,76	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,07
59	3,52	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,34

Fonte: Autor, 2016.

De acordo com as Tabelas 15 e 16, observa-se que as interações cujos valores são mais significantes à estabilização são: **45** (0,86 kcal.mol⁻¹ [$n_{3CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **48** (0,64 kcal.mol⁻¹ [$n_{2CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$] / 0,31 kcal.mol⁻¹ [$n_{3CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **49** (0,19 kcal.mol⁻¹ [$n_{3CL} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$]); **50** (0,36 kcal.mol⁻¹ [$n_{2CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **53** (0,22 kcal.mol⁻¹ [$n_{2CL} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$]); **55** (0,18 kcal.mol⁻¹ [$n_{2O} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$]); **58** (0,19 kcal.mol⁻¹ [$n_{3CL} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$]); **59** (0,34 kcal.mol⁻¹ [$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$]).

Após as análises QTAIM, para extração das propriedades topológicas das interações apresentadas nas Figuras 28 e 29, foi possível verificar interações não-convencionais que auxiliam no empacotamento da CL3ONA (Tabela 17). As interações **45** e **46** são expressivas o suficiente para entrar na classificação de ligação de hidrogênio, segundo a QTAIM, além de

apresentar valores de V que indicam pontos de maior estabilização eletrônica com relação às interações **23** e **26**.

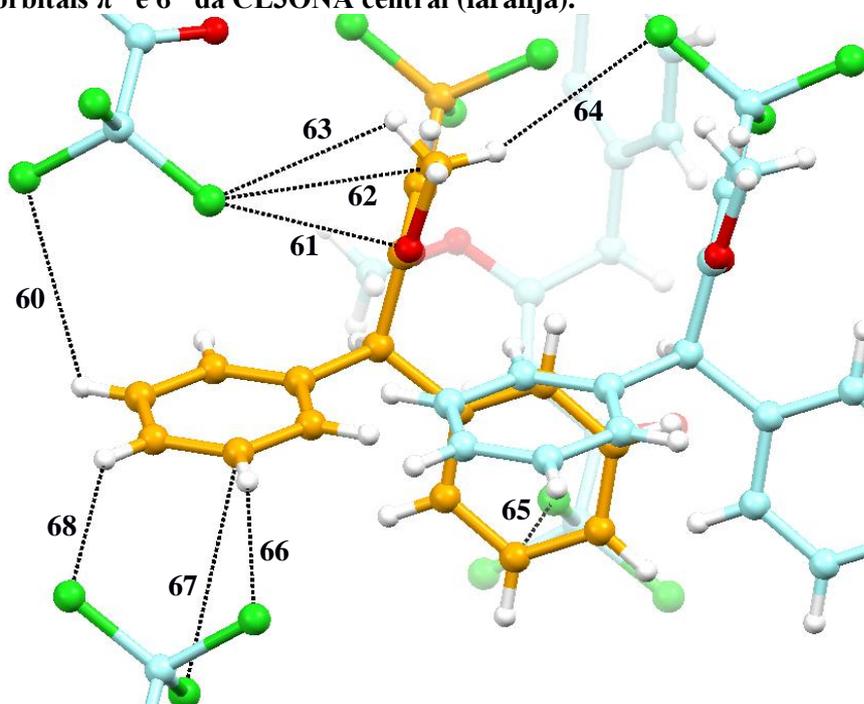
Tabela 17 – Propriedades QTAIM para as interações do tipo CL...X-C (X = C, H, O, CL) no empacotamento da CL3ONA.

BCP (Interação)	ρ (a.u.)	$\nabla^2\rho$ (u.a)	ε (a.u.)	V (a.u.)
45	0.004218	+0.013040	0.040367	-0.002158
48	0.003961	+0.013848	0.111278	-0.001998

Fonte: Autor, 2016.

Para concluir a análise das interações que estabilizam o sistema durante o empacotamento, foi analisado as transferências eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido do deslocamento são dos pares de elétrons n das CL3ONAs da vizinhança à CL3ONA central (Figura 31). Na Tabela 18, estão dispostos os valores de energia de deslocalização e a composição eletrônica destas interações.

Figura 31 – Interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais de elétrons n das CL3ONAs vizinhas (azul) para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central (laranja).



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 18 – Magnitude das interações intermoleculares do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$, cujo sentido da deslocalização são dos orbitais de elétrons n das CL3ONAs vizinhas para os orbitais π^* e σ^* da CL3ONA central.

INTERAÇÃO	DISTÂNCIA (Å)	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
60	3,57	$n3_{CL} \rightarrow \pi^*_{C-C}$	0,05
61	3,27	$n2_{CL} \rightarrow \pi^*_{C-C}$	0,07
65	3,52	$n2_{CL} \rightarrow \pi^*_{C-C}$	0,09
67	3,34	$n2_{CL} \rightarrow \pi^*_{C-C}$	0,10
62	3,47	$n1_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,11
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,23
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,06
63	3,12	$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,14
64	3,10	$n1_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,16
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,27
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,77
66	3,12	$n1_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,18
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,71
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,25
68	3,24	$n1_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,14
		$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,38
		$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$	0,05

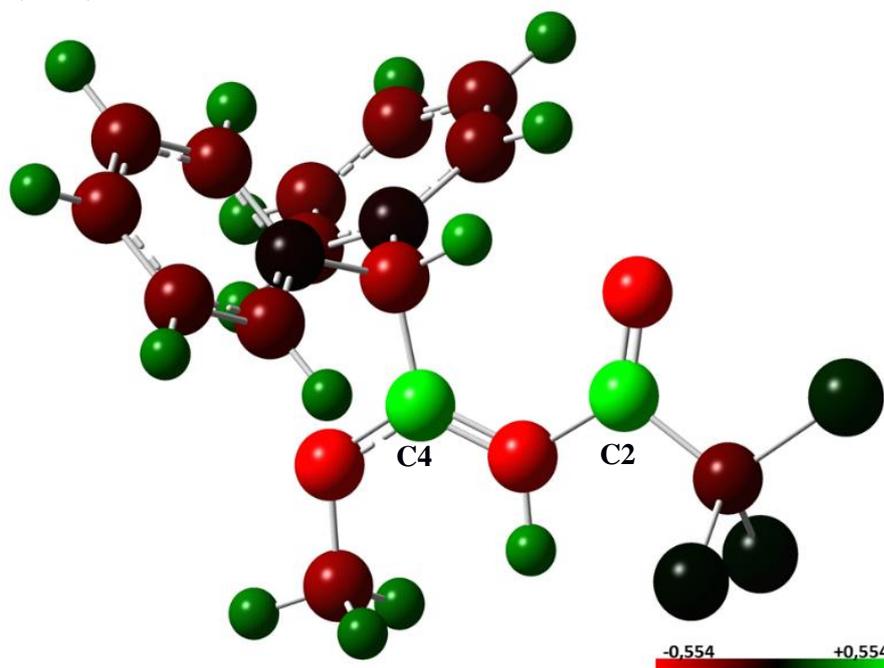
Fonte: Autor, 2016.

De acordo com as Tabela 18, pode-se observar que as interações cujos valores são mais significantes à estabilização são: **62** (0,23 kcal.mol⁻¹ [$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$]); **64** (0,27 kcal.mol⁻¹ [$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$] / 0,77kcal.mol⁻¹ [$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$]); **66** (0,71 kcal.mol⁻¹ [$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$] / 0,25kcal.mol⁻¹ [$n3_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$]); **68** (0,38 kcal.mol⁻¹ [$n2_{CL} \rightarrow \sigma^*_{C-H}$]).

8.3 Estudo da reatividade da CL3ONA frente a AChE

A atividade da AChE como uma serina hidrolase ocorre devido a nucleofilicidade da serina, para isso foram analisadas possíveis regiões de alta eletrofilicidade na molécula. Para tal constatação foram observadas duas regiões: C2 e C4 (Figura 32).

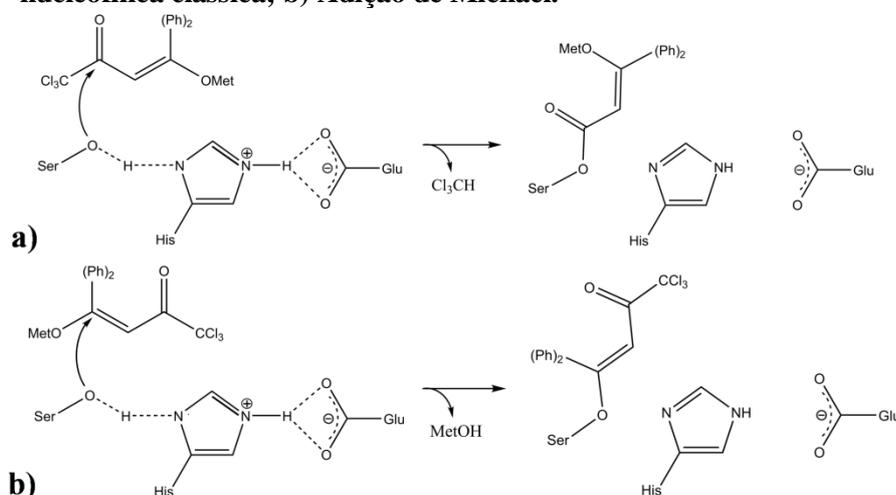
Figura 32 – Distribuição de carga oriunda da população dos Orbitais Naturais de Ligação (NBO).



Fonte: Autor, 2016.

Essas regiões eletrofílicas do ligante sugerem a possibilidade de dois mecanismos de inibição frente à AChE (Figura 33). Dependendo da região que sofrerá o ataque nucleofílico, o mecanismo poderá ser da seguinte forma: i) Reação de adição nucleofílica clássica à carbonila (C2); ii) Adição de Michael(C4).

Figura 33 – Proposta mecanística para a atuação anticolinérgica da CL3ONA: a) Adição nucleofílica clássica; b) Adição de Michael.



Fonte: Autor, 2016.

Para determinar em qual região ocorre o ataque nucleofílico e, conseqüentemente o mecanismo de ação, foi analisada, segundo a metodologia empregada, a distribuição de carga da população nos Orbitais Naturais de Ligação (NBO) sobre os centros C2 e C4 (Tabela 19). Na Tabela 19, observa-se um caráter mais eletrofílico no carbono da carbonila (C2), +0,528, quando comparado com o carbono- β à carbonila (C4), +0,503. Assim, o valor de carga NBO sobre o átomo C2 indica uma maior tendência ao ataque de nucleófilos “duros” quando comparado ao átomo C4. Ao comparar a distribuição de carga NBO destes átomos com a do átomo de carbono da carbonila da ACh, +0,867, observa-se uma larga diferença. Isto mostra uma alta susceptibilidade da ACh sofrer um ataque por parte da serina em comparação com a CL3ONA. Mediante este aspecto a CL3ONA se apresenta menos reativa que a ACh ante ao ataque nucleofílico da serina, indicando menor afinidade com o sítio esterásico.

Tabela 19 – Distribuição de cargas devido à população nos Orbitais Naturais de Ligação nos centros nucleofílicos da CL3ONA determinada com a metodologia PBE1PBE/cc-pVDZ.

CENTRO NUCLEOFÍLICO	DISTRIBUIÇÃO DE CARGA
C2	+0,528
C4	+0,503

Fonte: Autor, 2016.

Visando propor o mecanismo de inibição mais provável. Um estudo mais completo acerca da reatividade da CL3ONA frente à AChE será mostrado mais adiante.

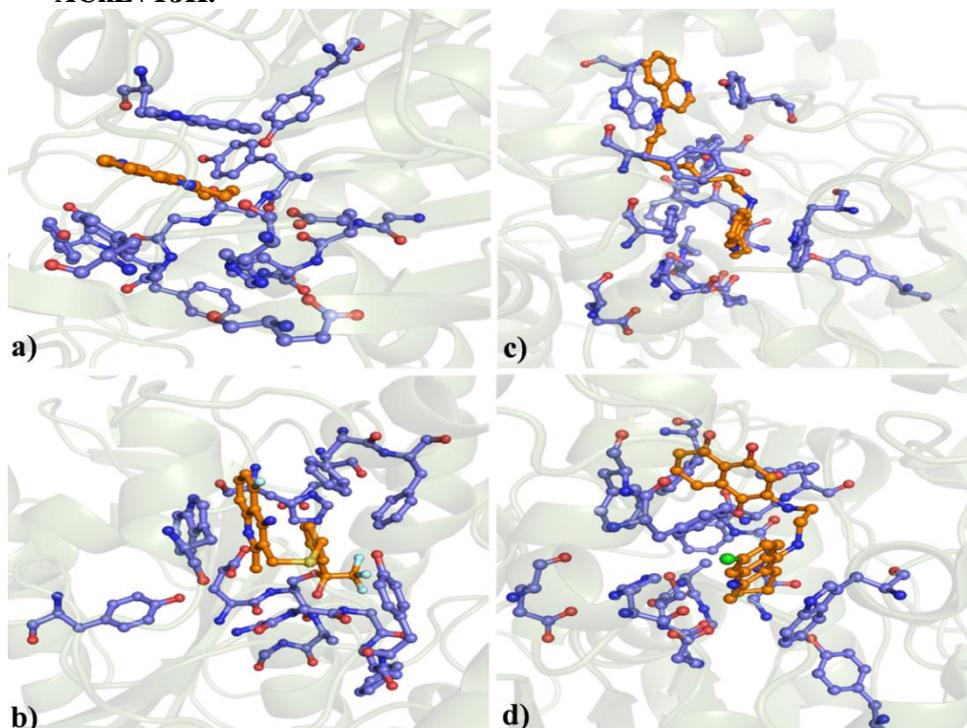
8.4 Interação Ligante-Proteína (ILP)

Para o estudo da interação ligante-proteína (ICP), foram consideradas duas possibilidades: i) Interação com a tríade catalítica (Competitivo) e ii) Interação com outros resíduos de aminoácidos (Não-competitivo).

8.4.1 Análise das interações nos sistemas de referência

Para uma melhor compreensão das interações no aduto CL3ONA+AChE, foi analisado em nível eletrônico as interações ligante-receptor de compostos já descritos na literatura, e cujas estruturas estão depositadas do *Protein Data Bank* (código do sistema composto+enzima): THA (1ACJ), FBQ (1HBJ), A8B (1ODC) e TJH (4TVK). Os ligantes interagem de forma diferente com a enzima em cada sistema, conforme atesta a Figura 34. Observa-se que três dos ligantes apresentam ação inibitória não-competitiva: ACJ, A8B e TJH. Somente um com ação inibitória competitiva: FBQ. Também pode ser observado que nem todos os resíduos de aminoácidos que compõe a cavidade enzimática interagem com os compostos para a formação do aduto.

Figura 34 – Disposição espacial dos resíduos de aminoácidos que compõem a cavidade enzimática e do ligante na formação do sistema ligante-enzima: a) Sistema AChE+THA; b) Sistema AChE+FBQ; c) Sistema AChE+A8B; e, d) Sistema AChE+TJH.



Fonte: Autor, 2016.

Nota: Sistema AChE+THA, disponível em: <bit.ly/1KNPc2Q>.

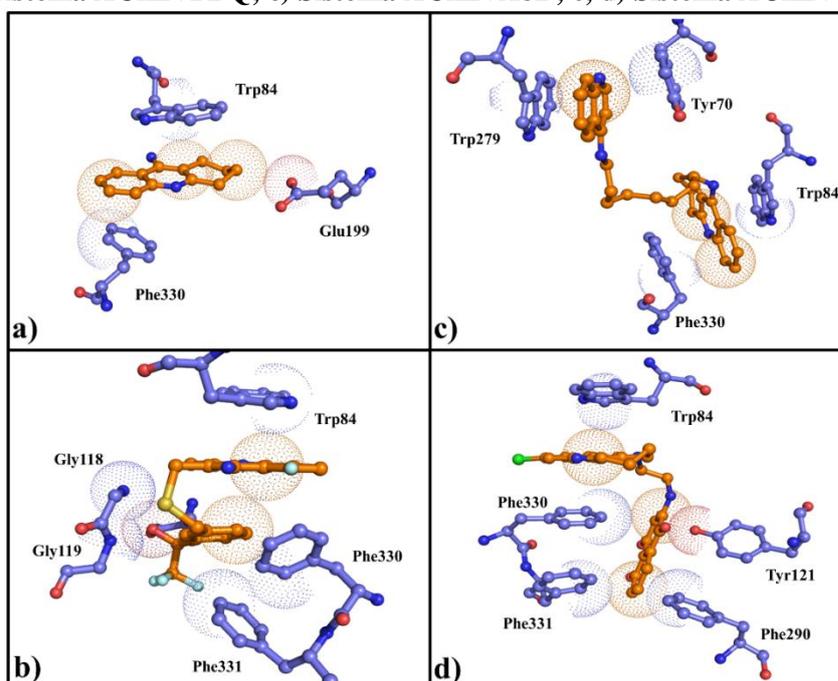
Sistema AChE+FBQ, disponível em: <bit.ly/1TB5hKy>.

Sistema AChE+A8B, disponível em: <bit.ly/1p8HGFU>.

Sistema AChE+TJH, disponível em: <bit.ly/1RqgBqP>.

Deste modo, cada sistema ligante-enzima apresenta interações diferentes (Figura 35). Observa-se também que as interações mais favoráveis são oriundas das regiões aromáticas dos resíduos de aminoácidos. Assim, as distâncias médias entre tais resíduos e os ligantes são tomadas para melhor compreensão das interações (Tabela 20).

Figura 35 – Interações que estabilizam o aduto ligante-enzima: a) Sistema AChE+THA; b) Sistema AChE+FBQ; c) Sistema AChE+A8B; e, d) Sistema AChE+TJH.



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 20 – Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade ao ligante.

LIGANTE	AMINOÁCIDO	DISTÂNCIA MÉDIA (Å)
THA	Trp84	3,39
	Glu199	3,16
	Phe330	3,36
FBQ	Trp84	3,34
	Gly118	2,73
	Gly119	2,73
	Phe330	3,26
	Phe331	3,66
A8B	Tyr70	3,20
	Trp84	3,60
	Trp279	3,38
	Phe330	3,71
TJH	Trp84	3,46
	Tyr121	2,10
	Phe290	2,47
	Phe330	3,67 ^a /3,35 ^b
	Phe331	3,29

Fonte: Autor, 2016.

Nota: ^aDistância média do aminoácido Phe330 para a região tacrinóide.

^bDistância média do aminoácido Phe330 para a região quinolínic.

Ao analisar as interações substrato-enzima entre os resíduos de aminoácidos aptos com os ligantes (Tabela 20), observou-se que as interações em sua maioria são oriundas de transferências eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (Tabela 21). Entretanto, as deslocalizações que mais contribuem para a estabilidade do aduto substrato-enzima são as do tipo $\pi \rightarrow \sigma^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$. Ao comparar os valores de energia das deslocalizações eletrônicas com as distâncias médias entre os resíduos de aminoácidos e o ligante, observa-se que uma predição baseada somente pela distância é insuficiente à estabilidade da interação.

Tabela 21 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com os ligantes: THA, FBQ e A8B.

INTERAÇÃO	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
Trp84...THA	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,77
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,09
	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,26
Glu199...THA	$n1_O \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	2,29
	$n2_O \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	1,61
Phe330...THA	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,10
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,18
	$\sigma_{C-H} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,14
Trp84...FBQ	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,42
Gly118...FBQ	$n1_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	8,29
	$n2_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	0,42
Gly119...FBQ	$n1_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	5,18
	$n2_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	2,01
	$n3_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	5,36
Phe330...FBQ	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,29
	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,20
Phe331...FBQ	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,42
Tyr70...A8B	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,48
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-N}^*$	0,12
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-N}^*$	0,12
Trp84...A8B	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,19
Trp279...A8B	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,21
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,39
Phe330...A8B	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-C}^*$	0,62
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,09

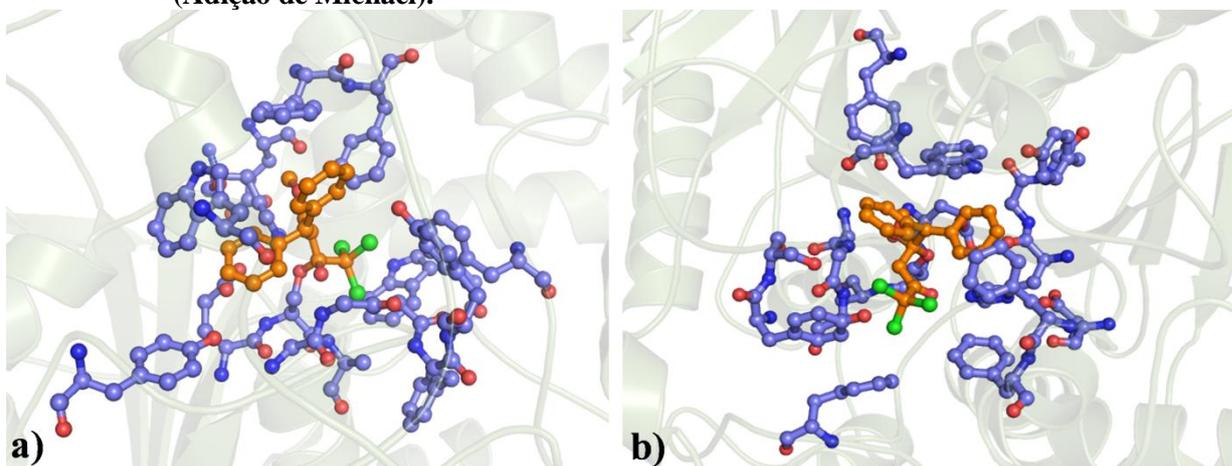
Fonte: Autor, 2016.

8.4.2 Análise das interações CL3ONA+ACHE

8.4.2.1 Interação com a tríade catalítica (Competitivo)

Na Figura 36, observa-se a conformação adotada pela CL3ONA na interação com a tríade catalítica. Ou seja, as duas possibilidades do ataque nucleofílico da serina ao centro reativo da CL3ONA (C2 e C4). Também pode ser observado que nem todos os resíduos de aminoácidos que compõem a cavidade enzimática interagem com os compostos para a formação do aduto.

Figura 36 – Resultado do *docking* para a interação competitiva da CL3ONA: a) Adição nucleofílica clássica à carbonila; e, b) Adição nucleofílica ao carbono β -insaturado (Adição de Michael).



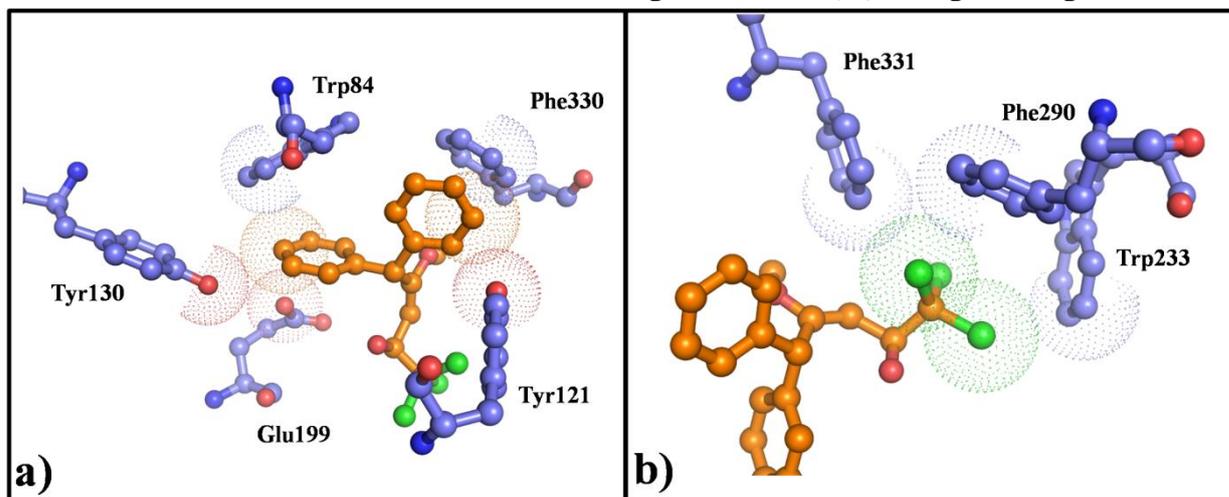
Fonte: Autor, 2016.

Nota: Sistema AChE+CL3ONA(carbonila), disponível em: <bit.ly/1R4p8wO>.

Sistema AChE+CL3ONA(carbono- β), disponível em:<bit.ly/1UmRJt>.

Na Figura 37, estão destacados os resíduos de aminoácidos analisados que mais auxiliam na estabilização da CL3ONA após o ataque da serina ao carbono da carbonila (mecanismo: **i**) (Figura 36.a). Para melhor visualização os sítios esterásico e oxiónico foram omitidos. Na Tabela 22 contém as distâncias médias de tais resíduos de aminoácidos para o ligante.

Figura 37 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA-AChE formado a partir do ataque nucleofílico clássico à carbonila: a) Região aromática; e, b) Região halogenada.



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 22 – Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade à CL3ONA após o ataque nucleofílico ao carbono da carbonila.

AMINOÁCIDO	DISTÂNCIA MÉDIA (Å)
Trp84	3,21
Tyr121	3,13
Tyr130	3,27
Glu199	3,13
Trp233	3,62
Phe290	3,25
Phe330	3,46
Phe331	3,57

Fonte: Autor, 2016.

Ao analisar as interações substrato-enzima entre os resíduos de aminoácidos com a CL3ONA, observou-se que as interações no aduto substrato-enzima são oriundas de deslocalizações eletrônicas dos tipos $\pi \rightarrow \pi^*$, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$ (Tabela 23).

Tabela 23 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com a CL3ONA via ataque nucleofílico clássico à carbonila.

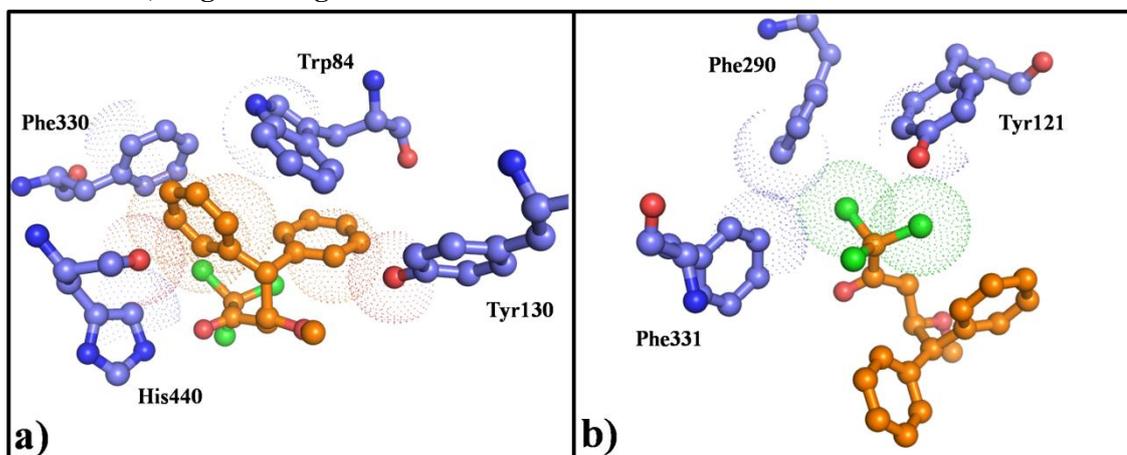
INTERAÇÃO	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
Trp84...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	1,01
	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,45
	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,35
Tyr121...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,93
Tyr130...CL3ONA	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,45
	$n_{1O} \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	0,31
Glu199...CL3ONA	-----	-----
Trp233...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,09
Phe290...CL3ONA	-----	-----
Phe330...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,47
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,12
Phe331...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,93

Fonte: Autor, 2016.

Para o mecanismo (i), a análise NBO das interações dos resíduos de aminoácidos Trp84, Phe330 e Phe331 com a CL3ONA mostrou valores de deslocalização eletrônica em geral maiores que nos sistemas AChE+THA, AChE+FBQ e AChE+A8B. Não foi possível computar o valor de energia de deslocalização eletrônica para a possível interação Glu199...CL3ONA, no sistema AChE+THA. A interação do ligante com o aminoácido Glu199 apresentou alto valor de energias de deslocalização para este sistema (Tabela 23). De um modo geral, o sistema AChE+CL3ONA (mecanismo: i) mostrou valores de energia de interação mais expressivos que os sistemas de referência: AChE+THA, AChE+FBQ e AChE+A8B. Juntamente com o fato de interagir com mais resíduos de aminoácidos do sítio ativo.

Na Figura 38, estão destacados os resíduos de aminoácidos que auxiliam na estabilização da CL3ONA após o ataque da serina ao carbono β -insaturado da carbonila (mecanismo: ii) (Figura 36.b). Para melhor visualização o sítio esterásico e oxiónico foi omitido. Na Tabela 24 estão dispostas as distâncias médias de tais resíduos de aminoácidos do ligante.

Figura 38 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA+AChE formado a partir do ataque nucleofílico ao carbono β -insaturado (Adição de Michael): a) Região aromática; e, b) Região halogenada.



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 24 – Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade à CL3ONA após o ataque nucleofílico ao carbono β -insaturado.

AMINOÁCIDO	DISTÂNCIA MÉDIA (Å)
Trp84	3,45
Tyr121	3,22
Tyr130	3,60
Phe290	3,14
Phe330	3,68
Phe331	3,73
His440	2,99

Fonte: Autor, 2016.

Ao analisar as interações da CL3ONA com o sítio oxifônico (Gly118, Gly119 e Ala201), somente os aminoácidos Gly118 e Gly119 interagem com a molécula. Ou seja, o grupo N–H destes aminoácidos estão orientados para o oxigênio da carbonila (Figura 36.a) e ao carbono- α à carbonila (Figura 36.b). Na Tabela 25, situa-se a distância média destes resíduos para a região da CL3ONA em cada situação.

Tabela 25 – Distância média dos resíduos de aminoácidos do sítio oxiónico à CL3ONA após o ataque nucleofílico da serina.

LIGANTE	AMINOÁCIDO	DISTÂNCIA MÉDIA (Å)
CL3ONA (Carbono da carbonila)	Gly118	2,81
	Gly119	3,22
	Ala201	4,36
CL3ONA (Carbono β -insaturado)	Gly118	3,18
	Gly119	3,52
	Ala201	4,80

Fonte: Autor, 2016.

Na Tabela 26, são observadas deslocalizações eletrônicas para as interações formadas pela CL3ONA com sítio oxiónico da AChE via adição nucleofílica à carbonila. Pelo fato da distância do sítio oxiónico ser menor para o oxigênio da carbonila que do carbono- α à carbonila (carbânion), além destes centros serem de natureza eletrônica diferentes, pode-se dizer que a interação do sítio oxiónico com a CL3ONA é mais bem estabilizada segundo o mecanismo i.

Tabela 26 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações da CL3ONA e o sítio oxiónico via adição nucleofílica clássica à carbonila.

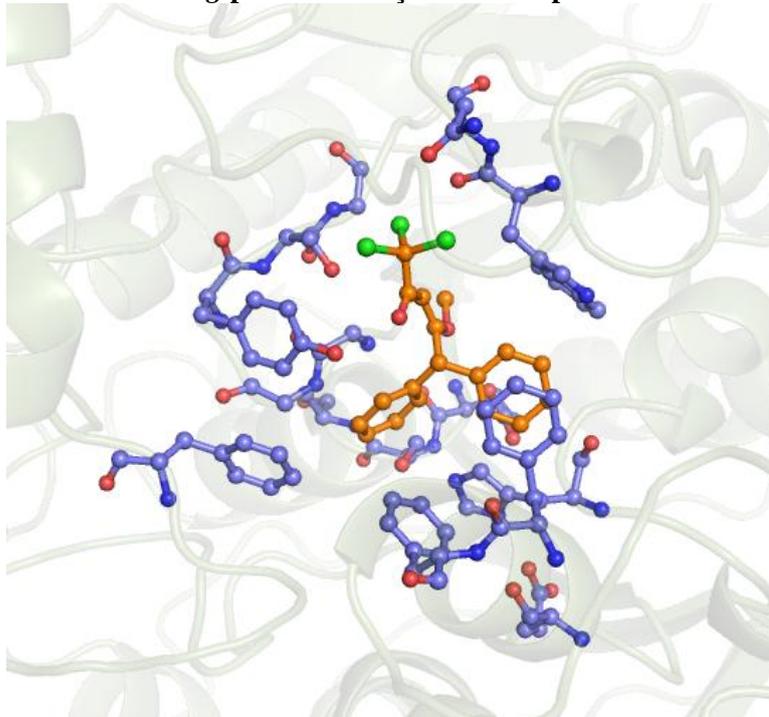
INTERAÇÃO	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
Gly118...CL3ONA	$n1_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	0,75
	$n3_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	1,10
Gly119...CL3ONA	$n1_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	5,34
	$n2_O \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	2,09

Fonte: Autor, 2016.

8.4.2.2 Interação com outros resíduos de aminoácidos (Não-competitivo)

Na Figura 39, observa-se a maneira que a CL3ONA se dispõem na cavidade enzimática na interação não-competitiva. E, constata-se que nem todos os resíduos de aminoácidos que compõem a cavidade são suscetíveis para a interação na formação do aduto.

Figura 39 – Resultado do *docking* para a interação não-competitiva da CL3ONA.

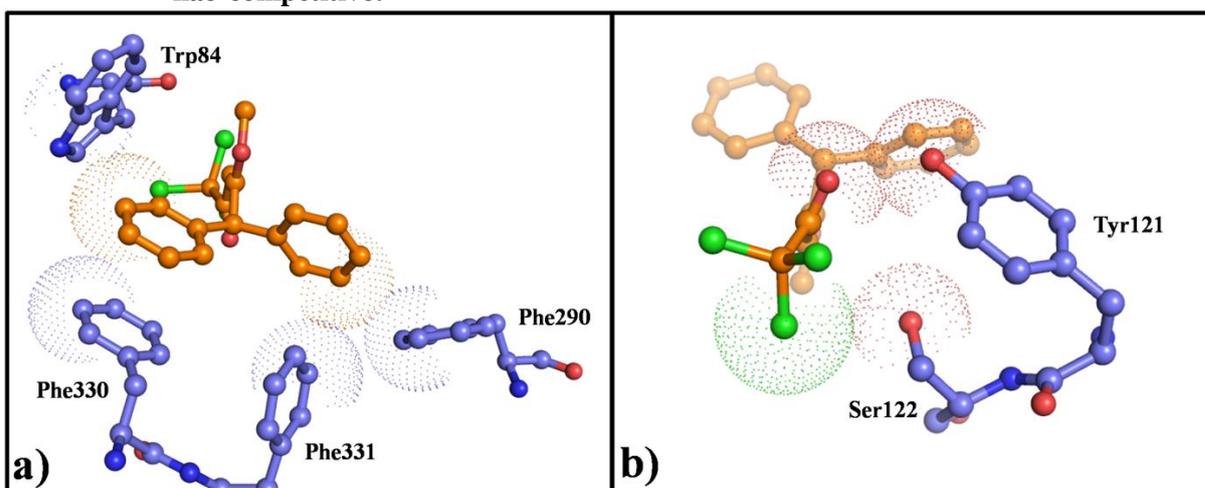


Fonte: Autor, 2016.

Nota: Sistema AChE+CL3ONA(não-competitivo), disponível em: <bit.ly/1oK5IqM>.

Assim, na Figura 40 estão destacados os resíduos de aminoácidos analisados que mais auxiliam na estabilização da CL3ONA. Na Tabela 27 está a distância média de tais resíduos de aminoácidos para o ligante.

Figura 40 – Interações que estabilizam o aduto CL3ONA+AChE no modelo de ação inibitória não-competitivo.



Fonte: Autor, 2016.

Tabela 27 – Distância média dos resíduos de aminoácidos da cavidade ao no modelo de ação inibitória não-competitivo.

AMINOÁCIDO	DISTÂNCIA MÉDIA (Å)
Trp84	2,95
Tyr121	3,20
Ser122	2,27
Phe290	3,21
Phe330	3,44
Phe331	3,53

Fonte: Autor, 2016.

A análise NBO das interações substrato-enzima indicou que as interações são oriundas de transferências eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (Tabela 28). Entretanto, as deslocalizações que mais contribuem para a estabilidade do aduto substrato-enzima são as do tipo $n \rightarrow \sigma^*$ e $\sigma \rightarrow \sigma^*$.

Tabela 28 – Energias de deslocalização eletrônicas para as interações entre os resíduos de aminoácidos do sítio ativo da AChE com a CL3ONA via mecanismo não-competitivo.

INTERAÇÃO	DESLOCALIZAÇÃO ELETRÔNICA	ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)
Trp84...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,19
	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,44
	$n_N \rightarrow \sigma_{N-H}^*$	2,85
	$\sigma_{N-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,81
Tyr121...CL3ONA	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	1,95
	$n1_o \rightarrow \sigma_{O-C}^*$ ^a	0,22
	$n2_o \rightarrow \pi_{O-C}^*$ ^b	0,14
Ser122...CL3ONA	$n1_o \rightarrow \sigma_{C-CL}^*$	0,28
Phe290...CL3ONA	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,80
	$\sigma_{C-H} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,45
	$\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$	0,21
Phe330...CL3ONA	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,24
	$\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,30
Phe331...CL3ONA	$\sigma_{C-H} \rightarrow \pi_{C-C}^*$	0,40

Fonte: Autor, 2016.

Nota: ^aOrbital anti-ligante da ligação σ da carbonila.

^bOrbital anti-ligante da ligação π da carbonila.

A análise NBO das interações do aduto formado segundo o mecanismo não-competitivo mostrou maior estabilidade eletrônica quando comparada aos sistemas

AChE+THA e AChE+A8B. Pois as deslocalizações do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ no sistema AChE+CL3ONA (não-competitivo) apresentaram maiores valores de energia de deslocalização eletrônica do que nesses sistemas; visto que este tipo de interação é mais efetiva à estabilidade do aduto substrato-enzima.

Ao comparar os resultados de energia de deslocalização eletrônica das interações no aduto substrato-enzima para os mecanismos não-competitivo e competitivo (**i**) (Tabelas 23, 26 e 28), observou-se que o mecanismo competitivo (**i**) apresentou uma estabilização adicional pelo maior número de interações com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo, assim como altos valores de energia de deslocalização eletrônica.

9 CONCLUSÃO

Na determinação estrutural da CL3ONA foi observada uma geometria (**E**); a cela unitária é composta por 4 moléculas e apresenta grupo espacial $P 2_1/n$; cujo índice de concordância para o modelo proposto em relação aos dados experimentais (R_{obs}) foi de 0,0529. No estudo das interações responsáveis pela estabilização do sistema durante a fase condensada foi possível observar deslocalizações eletrônicas do tipo:

- Ligação de hidrogênio não-convencionais;
- Deslocalizações eletrônicas do tipo $\pi_{C-C} \rightarrow \pi_{C-C}^*$;
- Deslocalização do tipo $\pi_{C-C} \rightarrow \sigma_{C-H}^*$;
- Ligação de di-halogênio entre átomos de cloro ($n \rightarrow \sigma^*$);
- Interações do tipo $n \rightarrow \pi^*$.

Na análise da reatividade da CL3ONA frente à AChE, pôde-se observar duas regiões propensas ao ataque nucleofílico da hidroxila da serina da tríade catalítica da AChE: carbono da carbonila (C2) e carbono- β insaturado à carbonila (C4). Cujas distribuições de carga do tipo NBO sobre esses centros foram: +0,528 (C2) e +0,503 (C4). Assim, há duas possibilidades para o mecanismo de ação: i) Adição nucleofílica clássica à carbonila e ii) Adição de Michael.

A análise NBO mostrou que o sistema AChE+CL3ONA apresentou interações cujos valores de energia de deslocalização eletrônica são mais significativos que os sistemas de referência. Visto que o referido sistema apresenta um maior número de interações relevantes com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo. Logo a análise para a elucidação do mecanismo de ação inibitória da CL3ONA frente à AChE apontou a rota competitiva segundo uma adição nucleofílica clássica à carbonila (mecanismo: **i**). Visto que nesta configuração o sistema AChE+CL3ONA apresenta maior número de interações com os resíduos de aminoácidos.

REFERÊNCIAS

- ABRAMSON, S. N. et al. Onchidal: a naturally occurring irreversible inhibitor of acetylcholinesterase with a novel mechanism of action. **Molecular Pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 349-354, 1989.
- ADAMO, C.; BARONE, V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. **The Journal of Chemical Physics**, v. 110, n. 13, p. 6158-6170, 1999.
- ALDRIDGE, W. N. Some properties of specific cholinesterase with particular reference to the mechanism of inhibition by diethyl p-nitrophenyl thiophosphate (E 605) and analogues. **Biochemical Journal**, v. 46, n. 4, p. 451-460, 1950.
- ALVAREZ, A. et al. Stable Complexes Involving Acetylcholinesterase and Amyloid- β Peptide Change the Biochemical Properties of the Enzyme and Increase the Neurotoxicity of Alzheimer's Fibrils. **The Journal of Neuroscience**, v. 18, n. 9, p. 3213-3223, 1998.
- AMARAL, P. D. A. et al. Química combinatória: moderna ferramenta para a obtenção de candidatos a protótipos de novos fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 351-363, 2003.
- BADER, R. F. W. A quantum theory of molecular structure and its applications. **Chemical Reviews**, v. 91, n. 5, p. 893-928, 1991.
- _____. **Atoms in Molecules: A Quantum Theory**. 22. Oxford University Press, Incorporated, 1994.
- BADER, R. F. W.; NGUYEN-DANG, T. T.; TAL, Y. A topological theory of molecular structure. **Reports on Progress in Physics**, v. 44, n. 8, p. 893, 1981.
- BANKS, J. L. et al. Integrated Modeling Program, Applied Chemical Theory (IMPACT). **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1752-1780, 2005.
- BERNSTEIN, J. **Polymorphism in Molecular Crystals**. Clarendon Press/International Union of Crystallography, 2002.
- BORN, M.; OPPENHEIMER, R. Zur Quantentheorie der Molekeln. **Annalen der Physik**, v. 389, n. 20, p. 457-484, 1927.
- BOWEN, D. M. et al. Biochemical Assessment of Serotonergic and Cholinergic Dysfunction and Cerebral Atrophy in Alzheimer's Disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 41, n. 1, p. 266-272, 1983.
- BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12. Rio de Janeiro: McGraw Hill Brasil, 2012.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry. Part A: Structure and Mechanisms**. 5. New York: Springer, 2007.

CARPENTER, J. E.; WEINHOLD, F. Analysis of the geometry of the hydroxymethyl radical by the "different hybrids for different spins" natural bond orbital procedure. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 169, p. 41-62, 1988.

CHANG, R. **Physical Chemistry for the Biosciences**. California: University Science Books, 2005.

COOK, D. B. **Handbook of Computational Quantum Chemistry**. New York: Dover Publication, 2005.

CORDELL, G. A. Changing strategies in natural products chemistry. **Phytochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1585-1612, 1995.

COYLE, J.; PRICE, D.; DELONG, M. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. **Science**, v. 219, n. 4589, p. 1184-1190, 1983.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-ray Diffraction**. 3. New Jersey: Prentice Hall, 2001.

DIRAC, P. A. M. Note on Exchange Phenomena in the Thomas Atom. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society**, v. 26, n. 03, p. 376-385, 1930.

DOUCET-PERSONENI, C. et al. A Structure-Based Design Approach to the Development of Novel, Reversible AChE Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 20, p. 3203-3215, 2001.

DRUDE, P. Zur Elektronentheorie der Metalle. **Annalen der Physik**, v. 306, n. 3, p. 566-613, 1900a.

_____. Zur Elektronentheorie der Metalle; II. Teil. Galvanomagnetische und thermomagnetische Effecte. **Annalen der Physik**, v. 308, n. 11, p. 369-402, 1900b.

DUNNING, T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. **The Journal of Chemical Physics**, v. 90, n. 2, p. 1007-1023, 1989.

EISBERG, R. M.; RESNICK, R. **Física Quântica: Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas**. Rio de Janeiro: Editora Campus, 1979.

ENZ, A. et al. Chapter 53: Brain selective inhibition of acetylcholinesterase: a novel approach to therapy for Alzheimer's disease. In: CUELLO, A. C. (Ed.). **Progress in Brain Research**: Elsevier, v. Volume 98, 1993. p.431-438.

ESPINOSA, E.; MOLINS, E.; LECOMTE, C. Hydrogen bond strengths revealed by topological analyses of experimentally observed electron densities. **Chemical Physics Letters**, v. 285, n. 3-4, p. 170-173, 1998.

FAMBROUGH, D. M.; DRACHMAN, D. B.; SATYAMURTI, S. Neuromuscular Junction in Myasthenia Gravis: Decreased Acetylcholine Receptors. **Science**, v. 182, n. 4109, p. 293-295, 1973.

FARRUGIA, L. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **Journal of Applied Crystallography**, v. 45, n. 4, p. 849-854, 2012.

FERMI, E. Eine statistische Methode zur Bestimmung einiger Eigenschaften des Atoms und ihre Anwendung auf die Theorie des periodischen Systems der Elemente. **Zeitschrift für Physik**, v. 48, n. 1-2, p. 73-79, 1928.

FERSHT, A. **Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding**. New York: W. H. Freeman, 1999.

FLAIG, R. et al. Intra- and Intermolecular Topological Properties of Amino Acids: A Comparative Study of Experimental and Theoretical Results. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 13, p. 3407-3417, 2002.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09**. Wallingford, CT, USA: Gaussian, Inc., 2009.

FROEDE, H. C.; WILSON, I. B. Direct determination of acetyl-enzyme intermediate in the acetylcholinesterase-catalyzed hydrolysis of acetylcholine and acetylthiocholine. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 17, p. 11010-11013, 1984.

GIACOBINI, E. **Cholinesterases and Cholinesterase Inhibitors: Basic Preclinical and Clinical Aspects**. London: Martin Dunitz Ltd, 2000.

GILBERT, T. L. Hohenberg-Kohn theorem for nonlocal external potentials. **Physical Review B**, v. 12, n. 6, p. 2111-2120, 1975.

GILLESPIE, R. J.; POPELIER, P. L. A. **Chemical Bonding and Molecular Geometry: From Lewis to Electron Densities**. Oxford University Press, 2001.

GILSON, M. et al. Open "back door" in a molecular dynamics simulation of acetylcholinesterase. **Science**, v. 263, n. 5151, p. 1276-1278, 1994.

GLENDENING, E. D.; LANDIS, C. R.; WEINHOLD, F. Natural bond orbital methods. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 2, n. 1, p. 1-42, 2012.

GROSS, K. C.; SEYBOLD, P. G. Substituent effects on the physical properties and pKa of aniline. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 80, n. 4-5, p. 1107-1115, 2000.

GUPTA, R. C. **Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds**. London: Elsevier Science, 2006.

_____. **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents**. 2. San Diego: Elsevier Science, 2015.

HAREL, M. et al. The X-ray Structure of a Transition State Analog Complex Reveals the Molecular Origins of the Catalytic Power and Substrate Specificity of Acetylcholinesterase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 10, p. 2340-2346, 1996.

HAREL, M. et al. Quaternary ligand binding to aromatic residues in the active-site gorge of acetylcholinesterase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 19, p. 9031-9035, 1993.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 2, p. 111-129, 2015.

HEDSTROM, L. Serine Protease Mechanism and Specificity. **Chemical Reviews**, v. 102, n. 12, p. 4501-4524, 2002.

HEITLER, W.; LONDON, F. Wechselwirkung neutraler Atome und homöopolare Bindung nach der Quantenmechanik. **Zeitschrift für Physik**, v. 44, n. 6-7, p. 455-472, 1927.

HILFIKER, R. **Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry**. Wiley, 2006.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864-B871, 1964.

HOPWOOD, D. A. et al. Production of ^{hybrid} antibiotics by genetic engineering. **Nature**, v. 314, n. 6012, p. 642-644, 1985.

HUND, F. Zur Deutung einiger Erscheinungen in den Molekelspektren. **Zeitschrift für Physik**, v. 36, n. 9-10, p. 657-674, 1926.

KEESEY, J. C. Contemporary opinions about Mary Walker: A shy pioneer of therapeutic neurology. **Neurology**, v. 51, n. 5, p. 1433-1439, 1998.

KIM, E.; MOORE, B. S.; YOON, Y. J. Reinvigorating natural product combinatorial biosynthesis with synthetic biology. **Nature Chemical Biology**, v. 11, n. 9, p. 649-659, 2015.

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 3, p. 206-220, 2005.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133-A1138, 1965.

KORITSANSZKY, T. S.; COPPENS, P. Chemical Applications of X-ray Charge-Density Analysis. **Chemical Reviews**, v. 101, n. 6, p. 1583-1628, 2001.

LENNARD-JONES, J. E. The electronic structure of some diatomic molecules. **Transactions of the Faraday Society**, v. 25, n. 0, p. 668-686, 1929.

LEVY, M. Universal variational functionals of electron densities, first-order density matrices, and natural spin-orbitals and solution of the v-representability problem. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, n. 12, p. 6062-6065, 1979.

_____. Electron densities in search of Hamiltonians. **Physical Review A**, v. 26, n. 3, p. 1200-1208, 1982.

LEVY, M.; PERDEW, J. P. Hellmann-Feynman, virial, and scaling requisites for the exact universal density functionals. Shape of the correlation potential and diamagnetic susceptibility for atoms. **Physical Review A**, v. 32, n. 4, p. 2010-2021, 1985.

LI, J. W.-H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? **Science**, v. 325, n. 5937, p. 161-165, 2009.

LI, W. K.; ZHOU, G.; MAK, T. C. W. **Advanced structural inorganic chemistry**. New York: Oxford University Press, 2008.

LINDNER, A.; SCHALKE, B.; TOYKA, K. V. Outcome in juvenile-onset myasthenia gravis: a retrospective study with long-term follow-up of 79 patients. **Journal of Neurology**, v. 244, n. 8, p. 515-520, 1997.

LINDSTROM, J. M. et al. Antibody to acetylcholine receptor in myasthenia gravis: Prevalence, clinical correlates, and diagnostic value. **Neurology**, v. 51, n. 4, p. 933-933-a, 1998.

LÖWDIN, P.-O. Quantum Theory of Many-Particle Systems. I. Physical Interpretations by Means of Density Matrices, Natural Spin-Orbitals, and Convergence Problems in the Method of Configurational Interaction. **Physical Review**, v. 97, n. 6, p. 1474-1489, 1955.

MACRAE, C. F. et al. Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 41, n. 2, p. 466-470, 2008.

MATTSON, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. **Nature**, v. 430, n. 7000, p. 631-639, 2004.

MCKHANN, G. M. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association**, v. 7, n. 3, p. 263-269, 2011.

METCALF, R. L.; FUKUTO, T. R. Effects of molecular structure upon anticholinesterase and insecticidal activity of substituted phenyl N-methylcarbamates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 15, n. 6, p. 1022-1029, 1967.

MILLARD, C. B.; BROOMFIELD, C. A. Anticholinesterases: Medical Applications of Neurochemical Principles. **Journal of Neurochemistry**, v. 64, n. 5, p. 1909-1918, 1995.

MULLIKEN, R. S. The Assignment of Quantum Numbers for Electrons in Molecules. I. **Physical Review**, v. 32, n. 2, p. 186-222, 1928.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Principios de bioquímica** 3 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NEPOVIMOVA, E. et al. Multitarget Drug Design Strategy: Quinone–Tacrine Hybrids Designed To Block Amyloid- β Aggregation and To Exert Anticholinesterase and Antioxidant Effects. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 20, p. 8576-8589, 2014.

OHNO, K. et al. The spectrum of mutations causing end-plate acetylcholinesterase deficiency. **Annals of Neurology**, v. 47, n. 2, p. 162-170, 2000.

PARR, R. G. **Density-Functional Theory of Atoms and Molecules**. Oxford University Press, USA, 1989.

PATRICK, J.; LINDSTROM, J. Autoimmune Response to Acetylcholine Receptor. **Science**, v. 180, n. 4088, p. 871-872, 1973.

PAULING, L. The Application of the Quantum Mechanics to the Structure of the Hydrogen Molecule and Hydrogen Molecule-Ion and to Related Problems. **Chemical Reviews**, v. 5, n. 2, p. 173-213, 1928.

_____. The nature of the chemical bond. Application of results obtained from the quantum mechanics and from a theory of paramagnetic susceptibility to the structure of molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 53, n. 4, p. 1367-1400, 1931.

PAULING, L.; WHELAND, G. W. The Nature of the Chemical Bond. V. The Quantum-Mechanical Calculation of the Resonance Energy of Benzene and Naphthalene and the Hydrocarbon Free Radicals. **The Journal of Chemical Physics**, v. 1, n. 6, p. 362-374, 1933.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized Gradient Approximation Made Simple. **Physical Review Letters**, v. 77, n. 18, p. 3865-3868, 1996.

PLANCK, M. Ueber das Gesetz der Energieverteilung im Normalspectrum. **Annalen der Physik**, v. 309, n. 3, p. 553-563, 1901.

POLITIS, M. Neuroimaging in Parkinson disease: from research setting to clinical practice. **Nature Reviews Neurology**, v. 10, n. 12, p. 708-722, 2014.

QUINN, D. M. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. **Chemical Reviews**, v. 87, n. 5, p. 955-979, 1987.

RAVES, M. L. et al. Structure of acetylcholinesterase complexed with the nootropic alkaloid, (-)-huperzine A. **Nature Structural and Molecular Biology**, v. 4, n. 1, p. 57-63, 1997.

REED, A. E.; CURTISS, L. A.; WEINHOLD, F. Intermolecular interactions from a natural bond orbital, donor-acceptor viewpoint. **Chemical Reviews**, v. 88, n. 6, p. 899-926, 1988.

REED, A. E.; WEINHOLD, F. Natural localized molecular orbitals. **The Journal of Chemical Physics**, v. 83, n. 4, p. 1736-1740, 1985.

REED, A. E.; WEINSTOCK, R. B.; WEINHOLD, F. Natural population analysis. **The Journal of Chemical Physics**, v. 83, n. 2, p. 735-746, 1985.

RYDBERG, E. H. et al. Complexes of Alkylene-Linked Tacrine Dimers with *Torpedo californica* Acetylcholinesterase: Binding of Bis(5)-tacrine Produces a Dramatic Rearrangement in the Active-Site Gorge. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 18, p. 5491-5500, 2006.

SANNIGRAHI, A. B.; NANDI, P. K.; SCHLEYER, P. V. R. Ab initio theoretical study of the electronic structure, stability and bonding of dialkali halide cations. **Chemical Physics Letters**, v. 204, n. 1-2, p. 73-79, 1993.

SBERNA, G. et al. Acetylcholinesterase Is Increased in the Brains of Transgenic Mice Expressing the C-Terminal Fragment (CT100) of the β -Amyloid Protein Precursor of Alzheimer's Disease. **Journal of Neurochemistry**, v. 71, n. 2, p. 723-731, 1998.

SCHRÖDINGER, E. An Undulatory Theory of the Mechanics of Atoms and Molecules. **Physical Review**, v. 28, n. 6, p. 1049-1070, 1926.

Schrödinger Release 2015-2: Maestro. LLC, New York, NY: Schrödinger, 2015.

SHELDRICK, G. M. **SHELXL97. Program for Crystal Structure Refinement**, 1997.

SHEN, T. et al. Molecular Dynamics of Acetylcholinesterase. **Accounts of Chemical Research**, v. 35, n. 6, p. 332-340, 2002.

SLATER, J. C. The Theory of Complex Spectra. **Physical Review**, v. 34, n. 10, p. 1293-1322, 1929.

SMITH, M. B.; MARCH, J. **March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure**. 6. New Jersey: Wiley, 2007.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 2, n. 4, p. 294-302, 2001.

STREGE, M. A. High-performance liquid chromatographic–electrospray ionization mass spectrometric analyses for the integration of natural products with modern high-throughput screening. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 725, n. 1, p. 67-78, 1999.

SUSSMAN, J. et al. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. **Science**, v. 253, n. 5022, p. 872-879, 1991.

SZABO, A.; OSTLUND, N. S. **Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory**. New York: Dover Publications, 1989.

THOMAS, L. H. The calculation of atomic fields. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society**, v. 23, n. 05, p. 542-548, 1927.

TREVISAN, M. T. S. et al. Atividades larvicida e anticolinesterásica de plantas do gênero Kalanchoe. **Química Nova**, v. 29, p. 415-418, 2006.

VIEGAS JUNIOR, C. et al. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do Mal de Alzheimer. **Química Nova**, v. 27, p. 655-660, 2004.

WARREN, B. E. **X-Ray Diffraction**. New York: Dover Publications, 1990.

WEINHOLD, F. Natural bond orbital analysis: A critical overview of relationships to alternative bonding perspectives. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, n. 30, p. 2363-2379, 2012.

WEINSTOCK, M. Possible role of the cholinergic system and disease models. In: MIZUNO, Y. et al (Ed.). **Advances in Research on Neurodegeneration**. Wien: Springer, 1997. cap. 10, p.93-102.

WHELAND, G. W.; PAULING, L. A Quantum Mechanical Discussion of Orientation of Substituents in Aromatic Molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 57, n. 11, p. 2086-2095, 1935.

ZACHARIASEN, W. H. **Theory of X-Ray Diffraction in Crystals**. New York: Dover Publications, 2004.

ZHANG, Y.; YANG, W. Comment on "Generalized Gradient Approximation Made Simple". **Physical Review Letters**, v. 80, n. 4, p. 890-890, 1998.

ZHOU, Y.; WANG, S.; ZHANG, Y. Catalytic Reaction Mechanism of Acetylcholinesterase Determined by Born–Oppenheimer Ab Initio QM/MM Molecular Dynamics Simulations. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 26, p. 8817-8825, 2010.

APÊNDICE A

Tabela 1 – Coordenadas atômica, em Ångström, e parâmetros de vibração térmicos isotrópicos equivalentes, exceto para os átomos de hidrogênio, para a CL3ONA,

ÁTOMO	x	y	z	U (Å ²)
CL1	0,52796(10)	0,10855(5)	0,37043(3)	0,0702(3)
CL2	0,94416(10)	0,00689(5)	0,35555(3)	0,0732(3)
CL3	0,91136(11)	0,23912(5)	0,35199(3)	0,0725(3)
O1	0,7852(3)	0,04351(17)	0,24097(7)	0,0977(8)
O2	0,3070(2)	0,28219(11)	0,17580(6)	0,0557(5)
C1	0,7703(3)	0,11635(17)	0,33411(9)	0,0531(8)
C2	0,7037(4)	0,11402(19)	0,26819(10)	0,0591(9)
C3	0,5466(4)	0,19605(19)	0,24742(10)	0,0549(9)
C4	0,4661(3)	0,20993(17)	0,19248(9)	0,0482(7)
C5	0,5353(4)	0,14799(18)	0,14163(9)	0,0477(8)
C6	0,2099(5)	0,3457(3)	0,21829(13)	0,0682(11)
C7	0,3713(3)	0,05747(17)	0,12234(9)	0,0490(8)
C8	0,4123(5)	-0,0046(2)	0,07528(12)	0,0651(10)
C9	0,2673(5)	-0,0856(2)	0,05549(12)	0,0775(11)
C10	0,0781(5)	-0,1063(2)	0,08210(13)	0,0729(11)
C11	0,0408(4)	-0,0468(2)	0,12960(13)	0,0678(11)
C12	0,1854(4)	0,0341(2)	0,14956(11)	0,0583(9)
C13	0,5792(3)	0,05747(17)	0,12234(9)	0,0490(8)
C14	0,4114(4)	0,2576(2)	0,05230(11)	0,0556(9)
C15	0,4528(5)	0,3301(2)	0,00988(11)	0,0657(10)
C16	0,6613(5)	0,3704(2)	0,00679(12)	0,0670(11)
C17	0,8302(5)	0,3394(2)	0,04661(12)	0,0680(11)
C18	0,7882(4)	0,2660(2)	0,08940(11)	0,0582(10)

Fonte: Autor, 2016

Tabela 2 – Coordenadas atômica, em Ångström, para os átomos de hidrogênios e parâmetros de deslocamento isotrópico para a CL3ONA,

ÁTOMO	x	y	z	U (Å ²)
H3	0,49681	0,24332	0,27422	0,049(8)
H5	0,67707	0,11288	0,15420	0,048(8)
H6A	0,10043	0,39374	0,19982	0,119(16)
H6B	0,32374	0,38732	0,23966	0,074(11)
H6C	0,14080	0,29848	0,24375	0,080(11)
H8	0,53886	0,00848	0,05687	0,077(11)
H9	0,29733	-0,12657	0,02394	0,104(14)
H10	-0,02194	-0,15937	0,06812	0,099(12)
H11	-0,08374	-0,06135	0,14860	0,068(10)
H12	0,15705	0,07342	0,18182	0,058(9)
H14	0,26859	0,23038	0,05351	0,061(9)
H15	0,33751	0,35167	-0,01685	0,084(11)
H16	0,68860	0,41851	-0,02215	0,091(11)
H17	0,97232	0,36724	0,04513	0,058(9)
H18	0,90418	0,24444	0,11593	0,061(10)

Fonte: Autor, 2016

Tabela 3 – Parâmetros de vibração anisotrópica dos átomos da CL3ONA, exceto para os átomos de hidrogênio,

ÁTOMO	U(1,1)	U(2,2)	U(3,3)	U(2,3)	U(1,3)	U(1,2)
CL1	0,0669(4)	0,0877(5)	0,0576(4)	0,0022(3)	0,0145(3)	-0,0006(3)
CL2	0,0836(5)	0,0752(4)	0,0596(4)	0,0116(3)	0,0013(3)	0,0213(3)
CL3	0,0787(5)	0,0696(4)	0,0677(5)	-0,0008(3)	-0,0010(3)	-0,0120(3)
O1	0,1384(17)	0,1060(15)	0,0473(10)	-0,0028(11)	0,0028(11)	0,0648(14)
O2	0,0632(9)	0,0556(9)	0,0479(9)	-0,0025(8)	0,0039(7)	0,0144(8)
C1	0,0573(14)	0,0578(14)	0,0438(13)	0,0020(11)	0,0027(10)	0,0020(11)
C2	0,0698(16)	0,0635(16)	0,0438(14)	-0,0018(12)	0,0052(11)	0,0113(13)
C3	0,0675(16)	0,0560(16)	0,0407(15)	-0,0086(12)	0,0032(12)	0,0109(12)
C4	0,0514(13)	0,0468(12)	0,0460(13)	-0,0020(11)	0,0033(10)	0,0020(10)
C5	0,0525(14)	0,0495(14)	0,0409(13)	0,0006(11)	0,0044(11)	0,0077(11)
C6	0,078(2)	0,068(2)	0,0597(19)	-0,0016(16)	0,0131(16)	0,0214(17)
C7	0,0608(14)	0,0430(12)	0,0429(13)	0,0027(11)	0,0042(11)	0,0044(11)
C8	0,0816(19)	0,0611(16)	0,0557(16)	-0,0100(14)	0,0222(14)	-0,0021(15)
C9	0,113(2)	0,0546(17)	0,067(2)	-0,0170(15)	0,0197(18)	-0,0099(17)
C10	0,085(2)	0,0558(17)	0,077(2)	-0,0040(16)	0,0028(16)	-0,0132(15)
C11	0,0748(19)	0,0583(17)	0,072(2)	-0,0010(15)	0,0159(15)	-0,0069(15)
C12	0,0711(17)	0,0526(16)	0,0521(16)	-0,0025(13)	0,0113(14)	0,0012(13)
C13	0,0512(14)	0,0482(12)	0,0403(12)	-0,0026(10)	0,0051(10)	0,0046(10)
C14	0,0561(16)	0,0627(16)	0,0472(14)	0,0014(13)	0,0013(12)	0,0010(12)
C15	0,080(2)	0,0668(17)	0,0494(16)	0,0058(14)	0,0023(14)	0,0141(15)
C16	0,088(2)	0,0588(17)	0,0572(18)	0,0089(13)	0,0218(16)	0,0065(15)
C17	0,0657(18)	0,0585(17)	0,083(2)	-0,0016(16)	0,0234(16)	-0,0084(14)
C18	0,0562(17)	0,0569(16)	0,0605(17)	-0,0040(13)	0,0012(13)	0,0041(12)

Fonte: Autor, 2016

Tabela 4 – Comprimentos de ligação, em Ångström, observados na molécula (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona após caracterização por difração de Raios X.

ÁTOMOS		COMPRIMENTO
CL1	C1	1,770(2)
CL2	C1	1,755(2)
CL3	C1	1,769(2)
C1	C2	1,561(3)
O1	C2	1,213(3)
C2	C3	1,441(3)
C3	C4	1,345(3)
C4	O2	1,342(2)
O2	C6	1,439(4)
C4	C5	1,512(3)
C5	C7	1,533(3)
C5	C13	1,525(3)
C7	C8	1,387(3)
C8	C9	1,380(4)
C9	C10	1,381(4)
C10	C11	1,373(4)
C11	C12	1,379(4)
C12	C7	1,378(3)
C13	C14	1,387(4)
C14	C15	1,380(4)
C15	C16	1,364(4)
C16	C17	1,370(4)
C17	C18	1,395(4)
C18	C13	1,374(3)

Fonte: Autor, 2016.

Tabela 5 – Ângulos médios de ligação observados na molécula (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona após caracterização por difração de Raios X.

ÁTOMOS			ÂNGULO (°)
CL1	C1	C2	109,58(11)
CL2	C1	C2	111,05(15)
CL3	C1	C2	108,81(15)
O1	C2	C3	127,9(2)
O2	C4	C5	110,61(17)
C1	C2	O1	117,2(2)
C1	C2	C3	114,84(19)
C2	C3	C4	125,4(2)
C3	C4	O2	123,12(19)
C3	C4	C5	126,27(19)
C4	O2	C6	119,31(18)
C4	C5	C13	110,95(18)
C4	C5	C7	112,38(18)
C7	C5	C13	112,82(17)
C7	C8	C9	120,7(3)
C8	C9	C10	120,6(3)
C9	C10	C11	118,6(2)
C10	C11	C12	121,0(2)
C11	C12	C7	120,9(2)
C12	C7	C8	118,2(2)
C13	C14	C15	121,1(2)
C14	C15	C16	120,6(3)
C15	C16	C17	119,5(3)
C16	C17	C18	119,8(8)
C17	C18	C13	121,4(2)
C18	C13	C14	117,6(2)

Fonte: Autor, 2016.

Tabela 6 – Ângulos médios de torção observados na molécula (E)-1,1,1-tricloro-5,5-difenil-4-metoxipent-3-en-2-ona após caracterização por difração de Raios X.

ÁTOMOS				ÂNGULO (°)
CL1	C1	C2	O1	-123,4(3)
CL2	C1	C2	O1	-3,4(3)
CL3	C1	C2	O1	116,9(2)
C1	C2	C3	C4	179,8(2)
C2	C3	C4	O2	174,7(2)
C2	C3	C4	C5	-4,5(4)
C3	C4	O2	C6	-2,5(3)
C3	C4	C5	C7	-132,7(2)
C3	C4	C5	C13	99,9(3)
C5	C4	O2	C6	176,8(2)
C7	C8	C9	C10	0,2(4)
C8	C5	C7	C13	52,4(3)
C10	C11	C12	C7	0,0(4)
C13	C18	C17	C16	-1,0(4)
C16	C15	C14	C13	0,8(3)

Fonte: Autor, 2016.